

Université de Montpellier II

NOTICE DE TRAVAUX
présentée pour obtenir le diplôme de :

HABILITATION A DIRIGER DES RECHERCHES
de l'Université des Sciences et Techniques du Languedoc, Montpellier II
par

Delphine LUQUET

Cirad

**Analyse et modélisation des relations source-puits pour
expliquer la morphogénèse de la plante entière, sa plasticité
phénotypique et la diversité génétique des stratégies
d'adaptation**

Application aux graminées tropicales cultivées

Année 2012

Sommaire

I. SYNTHÈSE DES ACTIVITÉS DE RECHERCHE 3

A. Contexte et objectifs 3

1. Nouveaux enjeux pour la sélection variétale 3
2. Un contexte technologique favorable pour une sélection variétale plus performante : opportunités et limites actuelles 4
3. Ecophysiologie et modélisation des plantes en appui à l'amélioration variétale 4
4. Objectifs et questions de recherche : étude des relations source-puits pour expliquer la morphogénèse de la plante, sa diversité génétique et sa plasticité phénotypique en réponse à son état nutritionnel 6
 - a) Objectif général 6
 - b) Positionnement et originalité dans un contexte international 6
 - (1) **Liaisons entre caractères : pertinence de l'approche « plante entière »** 6
 - (2) **Relations source-puits et leur régulation par l'état nutritionnel de la plante : porte d'entrée pour l'étude de la diversité génétique et plasticité phénotypique** 7
 - c) Thématiques abordées 9
 - d) Approches combinées dans la démarche globale 10

B. Bilan des recherches menées (2003-2011)..... 11

1. Vigueur au départ et sa plasticité phénotypique chez le riz et le sorgho 11
 - a) Approche expérimentale intégrée 11
 - (1) **Principes** 11
 - (2) **Principaux résultats chez le riz** 12
 - (3) **Pertinence pour l'étude de diversité génétique** 15
 - (4) **Limites actuelles du travail** 17
 - b) Développement et application du modèle Ecomeristem 17
 - (1) **Positionnement de l'outil dans la communauté internationale de modélisation des plantes** 17
 - (2) **Description de l'outil et ses concepts** 18
 - (3) **Pertinence des concepts dans une démarche d'exploration de la diversité génétique et d'idéotypes** 21
 - c) Développement et application de méthodologies de phénotypage 23
2. Bases génétiques et environnementales des mécanismes constituant l'accumulation de sucre chez les graminées sucrées et sa combinaison à une production de grain 26

II. PROJET DE RECHERCHES..... 30

A. Synthèse critique du bilan de recherche..... 30

B. Une volonté de s'inscrire dans le développement de cultures pluri-usage : pertinence du sorgho 31

C. Un projet en montage structurant : « biomass crop for the future » 32

1. Objectifs généraux 32
2. Mes objectifs : vers la définition d'idéotypes de sorgho 'biomasse' 32
 - a) Analyse fonctionnelle : enjeu d'une approche pluri-échelle et pluridisciplinaire 33
 - b) Vers des approches adaptées au phénotypage à grande échelle : du champ au laboratoire 34

c) Formalisation par une approche de modélisation : appui au phénotypage et conception d'idéotypes variétaux	34
D. Valorisation de mes travaux sur la vigueur au départ chez le riz: rôle dans l'amélioration de potentiels de rendement ?	37
E. Vision élargie du champ d'application et à plus long terme	38
III. BIBLIOGRAPHIE.....	40

I. Synthèse des activités de recherche

A. Contexte et objectifs

1. Nouveaux enjeux pour la sélection variétale

Dans les années 60 et 70, la révolution verte a mené à de considérables progrès des performances agronomiques, tant par l'amélioration des pratiques culturales que variétales, notamment par l'introduction du gène de nanisme chez les céréales comme le riz (Monna *et al.* 2002). Depuis, les années 90 un certain ralentissement de cette progression s'est fait sentir ; les potentiels de rendement ont tendance à plafonner, alors que la demande planétaire, notamment alimentaire, ne cesse d'augmenter (www.fao.org). Ce plafonnement peut s'expliquer en grande partie par les raisons suivantes :

- la révolution verte a marqué la volonté de réduire la plasticité phénotypique dans l'optique d'augmenter, mais surtout stabiliser, les rendements et leur potentiel dans des environnements moins favorables; cela s'avère aujourd'hui pénalisant dans un contexte climatique de plus en plus fluctuant et changeant (Giese *et al.* 2009), les variétés cultivées étant peu adaptables et les pratiques culturales incapables de pallier toutes les contraintes abiotiques rencontrées.
- Les méthodes de sélection variétale classiques ont butté contre certaines limites biologiques, relatives notamment aux liaisons génétiques et physiologiques entre caractères, rendant difficile l'amélioration à la fois des potentiels de rendement et de leur stabilité (Tollenaar and Lee 2002).
- Le problème se trouve amplifié dans les pays en (voie de) développement pour lesquels les moyens technologiques culturaux sont plus limités. Plus généralement, la politique internationale d'économie des ressources, notamment hydrique, et de développement durable, notamment par réduction des intrants, fait que l'intensification des pratiques agricoles n'est pas la solution ciblée (cf. agriculture de conservation, <http://www.fao.org/ag/ca/>).

D'autre part durant la dernière décennie, l'utilisation des plantes cultivées pour la production de bioénergie a connu un essor considérable, ce, afin de trouver des alternatives au pétrole, ressource en voie de tarissement et dont l'utilisation est par ailleurs extrêmement polluante (Dufey 2006; Hill *et al.* 2006). C'est notamment le cas de la canne à sucre, dont l'utilisation au Brésil pour la production de bio-ethanol ne cesse d'augmenter (Zahniser). L'utilisation des grandes cultures pour la production de bioénergies pose cependant le problème d'une compétition avec leur utilisation pour l'alimentation humaine mais aussi animale. Cela a généré un intérêt pour les **cultures à usage multiple, telles que le sorgho, permettant une production combinée de saccharose, biomasse et/ou grain** (Tuck *et al.* 2006).

Ce nouveau contexte socio-économique et environnemental implique de nouveaux défis pour la sélection variétale, appelée à **proposer des génotypes plus performants et mieux adaptés aux changements et fluctuations climatiques, mais aussi à combiner** dans un même génotype des critères de production et de stabilité dans un environnement de plus en plus fluctuant : **Les idéotypes recherchés sont de plus en plus complexes.**

2. Un contexte technologique favorable à une sélection variétale plus performante : opportunités et limites actuelles

Durant les dernières décennies des progrès phénoménaux ont été réalisés dans les domaines de la génétique et de l'informatique, offrant de nouvelles opportunités à l'amélioration et sélection variétale.

En génétique, le génome de plusieurs espèces végétales a été séquencé (comme récemment le sorgho, Paterson *et al.* 2009) et aujourd'hui des effectifs considérables de génotypes peuvent être totalement génotypés avec des marqueurs moléculaires de plus en plus fins (par exemple, les SNP, Single Nucleotide Polymorphism notamment chez le riz ; McNally *et al.* 2009). D'autre part la transformation génétique permet aujourd'hui la modification d'un gène ciblé chez certaines espèces comme le riz (Asai *et al.* 2002; Miyoshi *et al.* 2004; Zou *et al.* 2005) alors que les techniques sont en cours de mise au point chez d'autres espèces (sorgho, canne à sucre). Ces techniques représentent des atouts majeurs pour une accélération de l'amélioration variétale.

En informatique, outre l'essor de la bioinformatique permettant aujourd'hui de gérer et analyser des bases de données génomiques considérables, les progrès en modélisation des plantes (eg. OpenAlea ; Pradal *et al.* 2008) et des peuplements (eg. APSIM (Wang *et al.* 2002); Record (Bergez *et al.* 2007)) permettent de représenter des systèmes de plus en plus complexes, intégrant des connaissances sur les interactions entre un génotype et son environnement agro-climatique (GxE ; Hammer *et al.* 2005; Hammer *et al.* 2002). L'utilisation de tels modèles est cruciale pour appréhender ces systèmes dans leur ensemble, tester *in silico* l'adéquation génotype / milieu et ainsi orienter la sélection variétale, chose quasiment impossible expérimentalement. D'autre part les paramètres des équations de ces modèles ainsi affinés en deviennent de plus en plus représentatifs des processus biologiques de réponse à l'environnement; il est donc attendu et prouvé, pour certains processus simples, que la valeur de ces paramètres puisse différencier les comportements génotypiques et être reliée à de l'information génétique (QTL, quantitative trait loci ; Reymond *et al.* 2003; Reymond *et al.* 2004; Yin *et al.* 1999), voire même être plus stable au travers d'environnements contrastés.

3. Ecophysiologie et modélisation des plantes en appui à l'amélioration variétale

La mise à profit de telles technologies pour accélérer la définition et création d'idéotypes variétaux implique une compréhension de plus en plus fine du fonctionnement des plantes, pour accéder à des processus élémentaires au niveau desquels s'expriment les GxE et la diversité génétique existante. Les caractères complexes agronomiques ciblés (performance, rendement) doivent être disséqués en caractères plus simples, d'un point de vue physiologique et génétique. Cela est déterminant afin de mettre en relation le génotype et le phénotype, et proposer des combinaisons de caractères phénotypiques et de QTL, gènes et allèles sous-jacents en vue d'améliorer les performances recherchées.

La sélection variétale classique a toujours travaillé sur un grand nombre de génotypes, évalué en général à l'échelle de la plante ou du groupe de plantes, par des caractères génétiquement et physiologiquement complexes relatifs aux performances recherchées (grain, biomasse, sucre). C'est bien au niveau du phénotype plante entière que s'expriment les régulations des performances du peuplement en réponse à l'environnement et c'est aussi à cette échelle que le sélectionneur travaille en vue de définir des idéotypes. **L'analyse fonctionnelle du système 'plante-entière' vu comme un ensemble de processus en interactions semble donc pertinente pour la mise en relation génotype-phénotype et la modélisation d'idéotypes variétaux.**

L'approche expérimentale, accompagnée d'une caractérisation pertinente de l'environnement de la plante, permet de définir les caractères discriminants, intervenant dans la réponse de la plante à une contrainte environnementale étudiée. Ces caractères peuvent être de nature différente selon les objectifs : morphologique, biochimique, physiologique.

Si les moyens métrologiques en biologie ont connu une progression considérable durant les dix dernières années (par exemple avec la révolution des sciences 'omics' (Gibon *et al.* 2004) ou l'imagerie (Jones *et al.* 2009), permettant l'accès à de nouveaux processus avec un débit de phénotypage de plus en plus efficace, il demeure que ces caractères doivent être étudiés dans plusieurs environnements pour en formaliser la réponse à des variations environnementales, i.e. **modéliser leurs normes de réaction**. La caractérisation des variables environnementales de la plante s'avère donc cruciale pour rendre possible l'accès à ces paramètres génotypiques de réponse à l'environnement. Idéalement, les variables environnementales dont on ne veut pas observer l'influence sur la plante doivent être contrôlées et non limitantes et les variables environnementales dont on veut comprendre l'effet sur le phénotype se doivent d'être caractérisées à l'échelle spatiotemporelle pertinente pour le caractère étudié. Il est donc intéressant de combiner des études au champ (en milieu de culture ciblé) et en chambre de culture (où l'on peut contrôler l'environnement). Les variables environnementales à faire varier seront alors choisies en fonction des contraintes rencontrées dans les TPE (Target population of Environments, Chapman *et al.* 2000; Heinemann *et al.* 2008), i.e. les typologies d'environnement de culture cibles caractérisées par l'impact d'une ou plusieurs variables environnementales sur l'élaboration du rendement (selon la fréquence, intensité et stade d'occurrence de stress durant le cycle de culture).

Les normes de réaction des processus étudiés ainsi mises en évidence peuvent alors être formalisées sous formes d'équations ou modèles à leur tour intégrés les uns aux autres pour **une représentation mathématique du fonctionnement du système plante dans son environnement**. L'approche intégrée ainsi proposée permet i) d'accéder à des paramètres génotypiques simples, indépendants de l'environnement, donc héréditaires, et d'intérêt pour le **phénotypage** à vocation d'études génétiques (Reymond *et al.* 2003); ii) de formaliser un système complexe intégré pour définir *in silico* des **idéotypes variétaux** pour un environnement donné (Hammer *et al.* 2002), comme la combinaison de valeurs de paramètres génotypiques idéalement reliés à des loci et allèles.

4. Objectifs et questions de recherche : étude des relations source-puits pour expliquer la morphogénèse de la plante, sa diversité génétique et sa plasticité phénotypique en réponse à son état nutritionnel

a) Objectif général

Depuis mon entrée au CIRAD fin 2002, mes objectifs de recherche ont visé à mettre à profit une telle **approche combinant écophysiologie et modélisation pour comprendre les bases génétiques et environnementales de la morphogénèse de la plante entière, i.e. la construction du phénotype et de ses performances**. La finalité étant de **proposer des caractères d'intérêt, (i) pour le phénotypage à vocation d'étude génétique et (2) à combiner dans la définition d'idéotypes**.

Mes recherches se sont appliquées **aux graminées** tropicales, en premier lieu les espèces prioritaires pour le CIRAD telles que le **riz et le sorgho**. Ces deux espèces d'intérêt économique et agronomique pour les partenaires du CIRAD sont par ailleurs deux plantes modèles en biologie pour les monocotylédones C3 et C4 respectivement, leur génome ayant été séquencé. Leur intérêt réside également dans leur fort niveau de syntenie génétique et de proximité morphogénétique, entre elle et avec d'autres graminées d'intérêt agronomique, telles que la **canne à sucre**, permettant ainsi d'extrapoler les résultats obtenues.

b) Positionnement et originalité dans un contexte international

(1) Liaisons entre caractères : pertinence de l'approche « plante entière »

Durant la dernière décennie le rôle de l'écophysiologie et de la modélisation comme pont entre le génotype et le phénotype a connu un essor considérable. Cela est devenu un challenge majeur à relever en vue d'accélérer le progrès génétique par une meilleure mise à profit de l'information génétique considérable aujourd'hui disponible; la difficulté principale étant de relier des caractères d'intérêt, leur impact sur le phénotype 'plante' ou 'peuplement' avec l'action de gènes ou loci (Dingkuhn *et al.* 2005; Hammer *et al.* 2005; Tardieu *et al.* 2005).

Le succès de certains travaux a déjà démontré la pertinence de cette approche pour des caractères phénotypiques relativement simples. Notamment Reymond *et al.* (2003; 2004) et Yin *et al.* (1999) ont utilisé un modèle de réponse de l'expansion foliaire (Leaf Expansion Rate, LER) aux variables environnementales constituant le déficit hydrique (potentiel hydrique du sol, différence de pression de vapeur d'eau VPD et de température entre la feuille et l'air) pour phénotyper des populations de lignées chez le maïs. Leurs résultats ont démontré que les QTLs détectés par les paramètres de ce modèle sont plus stables au travers d'environnements et de fonds génétiques (tempéré, tropical) différents, comparé à des caractères directement mesurés, moins exempts de l'effet de l'environnement (tels que la dimension de feuilles; Welcker *et al.* 2007). L'effet pleiotropique de certains de ces QTLs sur la réponse du taux d'expansion des soies des épis de maïs (et donc de l'ASI, Anthesis to Silking Interval) au stress hydrique a été démontré par les mêmes auteurs (Welcker *et al.*

2007). L'effet de tels QTLs de modèle relativement simple sur la performance du peuplement de maïs sous différents régimes hydrique a alors pu être étudié grâce à la capacité intégrative de la modélisation. En effet, plus récemment Chenu *et al.* (2008, 2009) ont intégré dans le modèle de culture APSIM ce modèle de LER, rendant ainsi la simulation du LAI (Leaf Area Index), et donc du rendement final, dépendante des QTLs et allèles expliquant la valeur des paramètres du modèle LER.

Le travail a été complété en intégrant l'effet de ces mêmes QTLs sur l'ASI. L'impact sur les résultats de simulation obtenus a démontré la nécessité pour les modèles de croissance des plantes ou des cultures de prendre en compte les relations entre caractères, qu'elles soient génétiques et/ou physiologiques (Hammer *et al.* 2010). En effet, divers travaux ont montré l'existence de liens de nature physiologique et/ou génétique entre caractères composant la morphogénèse de la plante à différentes échelles biologiques (cellule, organe, plante entière) : Granier and Tardieu (2009); Tisné *et al.* (2008) chez arabidopsis ; W. ter Steege *et al.* (2005) chez le blé. Ces études font notamment état de relations et rétroactions entre le nombre (ramification, phyllochron) et taille des organes (feuilles notamment) chez différentes espèces. Le même type de relation de nature physiologique et potentiellement génétique (dans les cas où un effet pleiotropique est démontré) a pu être mis en évidence par des mutants de riz affectés sur un gène accélérant le taux de production des primordia foliaires au niveau du méristème apical et dont la taille finale des feuilles était systématiquement réduite (Itoh *et al.* 1998; Miyoshi *et al.* 2004).

Cet état de l'art a renforcé l'enjeu représenté **par l'approche plante entière dans la mise en relation génotype-phénotype, approche adoptée dès le début des mes recherches**. En effet, la diversité génétique au sein d'une espèce sera d'autant mieux expliquée et donc exploitée que l'orchestration physiologique et génétique des caractères constituant la construction du phénotype est prise en compte. Cette nécessité est évidemment accentuée lorsqu'il s'agit d'étudier la **plasticité phénotypique** (Dingkuhn *et al.* 2005; Pigliucci 2005; Wright and McConaughay 2002).

(2) Relations source-puits et leur régulation par l'état nutritionnel de la plante : porte d'entrée pour l'étude de la diversité génétique et plasticité phénotypique

Chez les graminées comme chez toutes les autres familles végétales, les assimilats carbonés issus de la photosynthèse sont utilisés pour assouvir la maintenance fonctionnelle de la plante et surtout la croissance des organes puits, dont le nombre et la taille varient en fonction des génotypes et du **fonctionnement de leur méristème** (dimensionnement et initiation des primordia). **Ce jeu de relations source-puts dans lequel les puts se retrouvent en compétition pour le même pool de ressources varie donc en fonction des génotypes** : les assimilats seront plus ou moins utilisés pour la croissance ou mis en réserve sous forme d'amidon, comme chez le riz, ou de saccharose chez le sorgho et la canne à sucre. Aussi, la diversité génétique des comportements morphogénétiques rencontrée au sein d'une espèce pourrait avoir comme marqueurs phénotypiques des caractères constituant ces relations source-puts, qu'ils soient de nature morphologique ou métabolique. D'un point de vue métabolique, elle pourrait se caractériser par une gamme de comportements ayant pour extrêmes soit une utilisation quasi-totale des assimilats pour la croissance, soit une

importante mise en réserve si le génotype considéré a une activité faible de ses puits (El-Lithy *et al.* 2010 ; Stitt *et al.* 2007).

D'autre part, **la plasticité phénotypique** de la plante, qui caractérise sa faculté à ajuster son phénotype aux conditions du milieu (Dingkuhn *et al.* 2005) repose essentiellement sur la régulation du fonctionnement des méristèmes en réponse à des signaux (eg. photo-morphogénétiques (Aphalo and Ballare 1995), métaboliques, tels que le saccharose ou le glucose (Liu 2004)). Ces signaux modifient notamment l'allocation des assimilats carbonés vers les organes dont la croissance sera privilégiée selon la contrainte subie par la plante. Les **assimilats carbonés sont donc centraux** dans le processus de plasticité phénotypique, tant comme i) pool de **ressources** disponible et à partager pour la croissance des organes puits ii) marqueurs de la vigueur de la plante ou de sa priorité à stocker ses réserves, et de la force de puits des organes plus ou moins privilégiés sous une contrainte donnée, iii) **molécules signal** rétroagissant sur le fonctionnement des méristèmes. Les **assimilats carbonés peuvent donc être des marqueurs pertinents de la plasticité phénotypique et de sa variabilité au sein de la diversité génétique d'une espèce** (Ramel *et al.* 2009 ; Stitt *et al.* 2007).

L'implication des relations source-puits et leurs normes de réaction pour expliquer la diversité génétique et la plasticité des comportements morphogénétiques sous-entend qu'il ne suffit pas de caractériser l'environnement externe à la plante pour comprendre et étudier les interactions GxE. **Ces normes de réaction doivent s'exprimer en fonction de variables d'état interne à la plante**, telles que sa disponibilité en assimilats carbonés ou son statut hydrique, résultats de l'environnement externe à la plante et de sa capacité à acquérir, utiliser une ressource donnée. C'est par ce biais que les normes de réactions peuvent discriminer des génotypes de façon pertinente. **Etant le résultat d'un système complexe de relations source-puits (offre/demande), de telles variables d'état sont difficilement accessibles sans l'utilisation de la modélisation comme outil d'intégration.**

Mes recherches se sont donc centrées sur le rôle des relations source-puits et de leur régulation dans la diversité génétique et la plasticité de la morphogénèse chez les graminées tropicales cultivées ; vers la compréhension de leurs bases physiologiques, génétiques et la définition d'idéotypes variétaux

Questions de recherches

- I. Quels mécanismes ‘source’ et ‘puits’ en assimilats carbonés composent et interagissent pour définir la morphogénèse de la plante et ses performances ?
- II. Ces mécanismes et leur orchestration dans la plante permettent ils d’expliquer la diversité génétique et la plasticité phénotypique de performances ciblées dans un environnement ciblé ?
- III. Quelle généricité de ces mécanismes entre stress abiotiques et entre espèces?
- IV. Comment modéliser ces processus dynamiques et leurs liaisons afin d’extraire l’information génotypique de l’environnement?
- V. Comment tirer profit de ces résultats pour définir des caractères synthétiques et pertinents à inclure dans une démarche de phénotypage et dans la définition d’idéotypes variétaux?

c) Thématiques abordées

Durant ces 9 dernières années, ces questions de recherche se sont inscrites dans différents projets aux thématiques appliquées aux graminées tropicales. Cela a donné lieu à plusieurs encadrements de thèses (4), post doctorats (2) et stages (16), ainsi qu’à l’animation de recherches faisant appel à beaucoup de pluridisciplinarité (généticiens, informaticiens, biochimistes, écophysiologistes, sélectionneurs) et de collaborations internationales dont je ferai mention dans le bilan de recherche qui suit. Les thématiques abordées, utilisées pour structurer mon bilan de recherche ont concerné :

- **La vigueur au départ** ou vigueur végétative et sa plasticité phénotypique chez le riz et le sorgho en réponse aux contraintes abiotiques (radiative, hydrique, phosphore), dans le cadre du projet fédérateur Oryzon du CIRAD, Whole Plant Modelling (WPM) du Generation Challenge Programme (GCP) que j’ai coordonné, puis du projet Orytage du CIRAD et du projet GenePhen du GCP.
- **L’accumulation de saccharose dans les entrenoeuds** du sorgho sucré et de la canne à sucre dans le cadre du projet européen Sweetfuel (sorgho) et du projet ANR DELICAS (cane à sucre) ; et pour le sorgho la compétition avec le remplissage du grain et la plasticité de ces mécanismes en réponse aux conditions photo-thermiques, notamment photopériodiques.

La thématique de la vigueur au départ et sa plasticité phénotypique sera notamment utilisée pour mettre en exergue la philosophie globale des recherches que j’ai pu mener ou superviser. La deuxième thématique sera plus brièvement traitée mais viendra démontrer la pertinence des concepts développés sur la vigueur au départ et renforcer le lien avec mon projet de recherche dans la partie suivante.

d) *Approches combinées dans la démarche globale*

La Figure 1 synthétise la démarche développée et utilisée pour atteindre ces objectifs et finaliser ces différents projets. Cette démarche repose sur une forte interdisciplinarité que j'ai contribué à animer, dans un contexte d'équipe ou d'animation de projet.

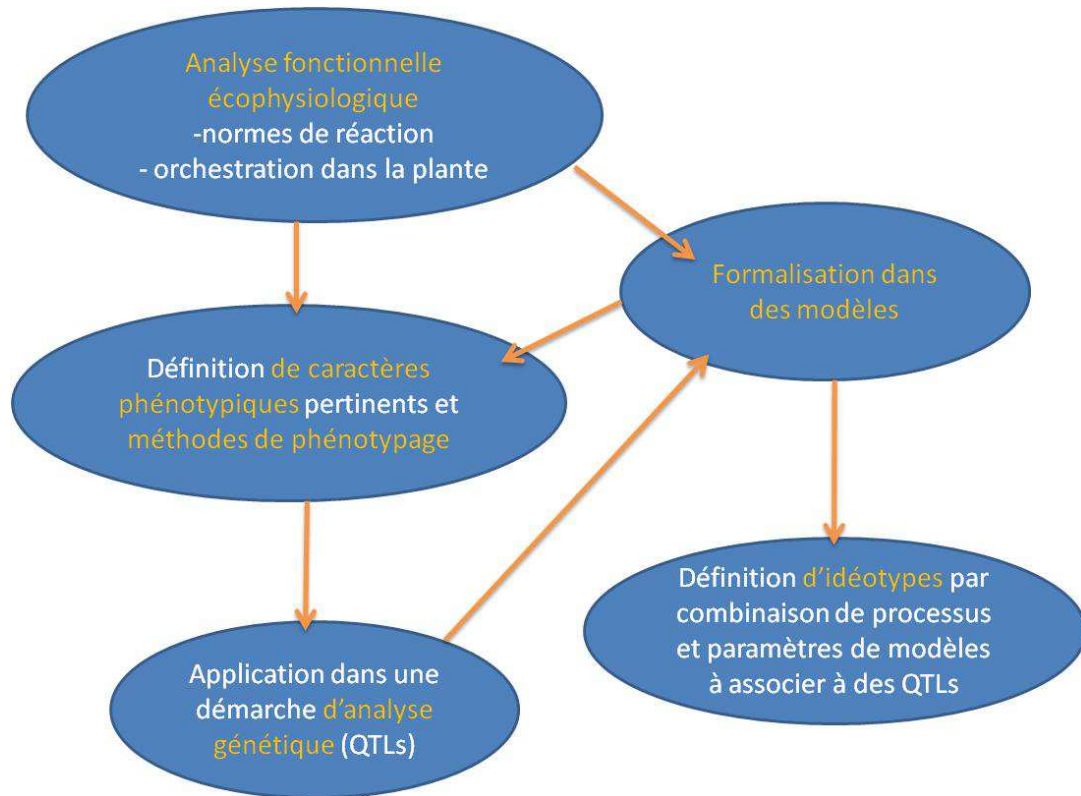


Figure 1 : Relations entre les approches composant la démarche scientifique adoptée faisant appel à de fortes synergies avec des collègues informaticiens, biochimistes, généticiens, statisticiens.

B. Bilan des recherches menées (2003-2011)

1. Vigueur au départ et sa plasticité phénotypique chez le riz et le sorgho

Cette thématique de recherche a eu comme point de départ le projet Oryzon du CIRAD. Celui-ci visait à associer autour d'une même thématique des sélectionneurs, généticiens, écophysiologistes et modélisateurs pour développer des méthodes permettant de faire le pont entre le génotype et le phénotype vers une création variétale accélérée par les outils moléculaires. La thématique choisie a été la vigueur végétative chez le riz et sa plasticité phénotypique en réponse à des stress abiotiques, le riz représentant une plante modèle pour les autres graminées. La vigueur végétative est une qualité clé pour la plantule lui permettant une installation rapide dans son milieu de culture et une colonisation efficace des ressources disponibles, tant édaphiques qu'aériennes. Cela lui confère notamment une meilleure compétitivité vis-à-vis des adventices (Zhao *et al.* 2006), aptitude particulièrement importante dans le contexte de pratiques culturales à faible niveau d'intrants et peu mécanisées. La plasticité phénotypique peut alors être un atout pour ajuster la construction du phénotype aux carences vécues par la plante dans sa phase d'installation.

a) Approche expérimentale intégrée

(1) Principes

C'est dans ce contexte que j'ai coordonné l'élaboration d'une approche intégrée pour l'étude des relations source-puits et de leur régulation par l'environnement. Cela a notamment pris place au sein de l'unité de recherche à laquelle j'appartenais alors, l'UR « modélisation intégrative », avec mes collègues écophysiologistes et biochimistes. Cette approche devait permettre d'étudier les relations source-puits expliquant les différences génotypiques de vigueur végétative et de sensibilité à une contrainte abiotique donnée. Le postulat de départ était que l'expression du phénotype, à partir d'un génotype et de son environnement, est définie au niveau des méristèmes par un potentiel génotypique et des stades de sensibilité aux contraintes environnementales ; ces sensibilités ou normes de réaction régulant l'expression de ce potentiel en termes d'initiation, dimensionnement ou durée de vie des organes.

Les caractères principalement étudiés ont été le tallage, la vitesse de développement ou phyllochrone, la taille (longueur, largeur, épaisseur) des feuilles, leur sénescence, l'accumulation de biomasse aérienne vs. racinaire (R/S, 'Root/Shoot') et les teneurs en sucres non structuraux (hexoses, saccharose, amidon) dans les différents organes de la plante, sources ou puits pour les assimilats carbonés. Certains caractères complémentaires ont été considérés de façon ponctuelle : la taille du méristème apical pour une étude de la plasticité phénotypique du riz en phase végétative en réponse à des ombrages ; sous stress hydrique, la transpiration des plantes par gravimétrie et les activités enzymatiques et niveaux d'expression des gènes du métabolisme carboné (invertases, sucrose synthase SS, sucrose

phosphate synthase SPS). Dans tous les cas un petit nombre de géotypes a été étudié (2 à 5) ; une étude sur un mutant phyllochronique avec un taux de développement anormalement fort et des feuilles de petite taille a aussi été réalisée pour confirmer certaines hypothèses sur ces relations source-puits (Luquet *et al.* 2007).

Initialement, la carence en phosphore a été choisie comme stress abiotique «modèle», du fait de sa facilité d'application et de dosage en conditions hydroponiques notamment, et pour son effet connu sur l'essentiel des caractères de vigueur végétative, comme le tallage et la répartition R/S des assimilats carbonés (Rodriguez *et al.* 1998). L'approche développée sur ce cas d'étude (Luquet *et al.* 2005a) a ensuite été extrapolée et affinée pour l'étude de la plasticité phénotypique en phase végétative sous d'autres stress abiotiques (chez le riz sous ombrage, (Lafarge *et al.* 2010) et stress hydrique, (Luquet *et al.* 2008a) ; chez le sorgho en réponse aux conditions photo-thermiques (Kim *et al.* 2010a; Kim *et al.* 2010b)). L'optique était alors d'approfondir ces résultats et d'en éprouver la généricité au travers des stress et espèces de graminées. L'extrapolation de ces recherches a non seulement pris place dans le projet Oryzon mais aussi dans d'autres projets :

- 2005-2008 : le projet WPM du GCP (partenariats avec l'INRA, l'université du Queensland UQ et l'Embrapa) dont j'ai assuré la coordination entre 2006 et 2008, visant à développer des modèles d'appui au phénotypage, à la définition d'idéotypes et la caractérisation des typologies d'environnements rencontrées dans les Cerrados brésiliens pour le maïs, le sorgho et le riz. Le travail sur le sorgho dans le contexte d'Oryzon et WPM a donné lieu à une thèse en cotutelle avec l'UQ, que j'ai co-encadrée.
- 2009-2011 : le projet Orytage (CIRAD) et Genphen (GCP) visant par la suite à appliquer des méthodologies de phénotypage développées dans Oryzon dans une démarche de génétique d'association, notamment pour des caractères de vigueur végétative et de réponses aux contraintes abiotiques.

Tous ces projets ont donné lieu à de nombreux encadrements de stages entre 2003 et 2009 (cf. liste des encadrements).

(2) Principaux résultats chez le riz

Au travers des contraintes abiotiques considérées, il a été démontré que la régulation des relations source-puits s'articule autour des mêmes processus ou caractères, orchestrés différemment i.e. avec des pondérations différentes selon le type de stress et le géotype. Les sucres non structuraux sont systématiquement apparus comme des marqueurs pertinents de la vigueur végétative et des régulations source- puits.

- Sous conditions de carence en phosphore (Dingkuhn *et al.* 2006; Luquet *et al.* 2005a):

La plante répond dans un premier temps par une réduction des forces de puits au niveau aérien, i.e. un ralentissement de l'expansion des feuilles et du tallage, le phyllochrone étant affecté plus tardivement probablement par feedback suite au ralentissement de l'expansion foliaire. La croissance racinaire est maintenue, a priori au détriment de la partie aérienne. Cela est conforté au niveau métabolique par une augmentation de l'allocation de saccharose au niveau des racines et à une réduction des hexoses et saccharose au niveau des feuilles, mis en réserve sous forme d'amidon (inversement peu présent dans les racines). Ces

mécanismes de plasticité ont pu être observés avant toute modification du bilan carboné de la plante (donc de la disponibilité en sucres non structuraux), suggérant une réponse à un signal relatif à la teneur en P des feuilles comme reporté par Shane *et al.* (2003).

- Sous conditions de stress hydrique (Luquet *et al.* 2008a; Figure 1) :

La même approche que celle mentionnée sous carence en P été utilisée, en affinant la nature et le nombre de caractères ciblés pour mieux caractériser les processus en jeu d'orchestration des relations source-puits. Le stress hydrique a été appliqué par un principe de 'dry-down', l'irrigation étant stoppée à un stade souhaité de développement de la plante, puis le sol dans les pots laissé à dessécher sous l'effet de la transpiration des plantes, la surface du sol étant recouverte de cellophane pour éviter l'évaporation. Ainsi, la transpiration des plantes en pots a pu être caractérisée par gravimétrie, les pots étant placés sur des balances à pesée automatisée afin de suivre en parallèle l'eau disponible dans le sol (FTSW : Fraction of Transpirable Soil Water, rapport entre l'eau du sol disponible à la plante et la réserve utile potentielle) et transpirée par les plantes (cf. Figure 7).

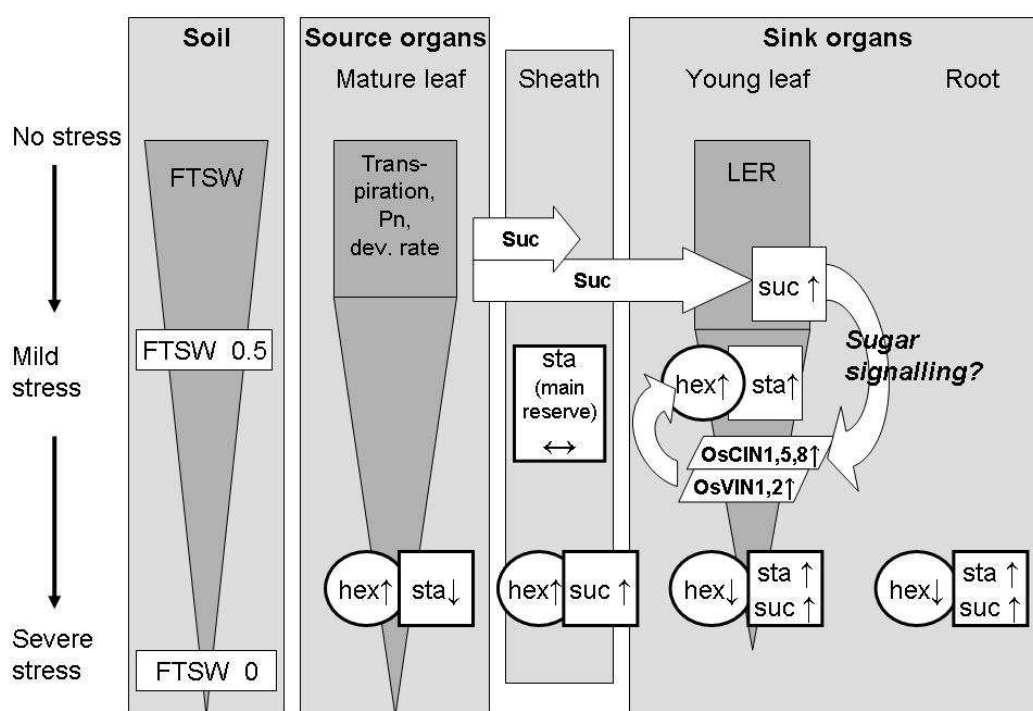


Figure 2 : Diagramme schématique des réponses physiologiques du riz durant un cycle de dessèchement du sol « dry-down » en phase végétative. FTSW = Fraction of Transpirable Soil Water, Pn = taux de photosynthèse net, LER = Leaf Extension Rate, hex = hexoses, suc = saccharose, sta = amidon, ↑ = augmentation de concentration ou expression, ↓ = réduction. D'après Luquet *et al.* (2008).

Pour mieux caractériser les marqueurs métaboliques relatifs au fonctionnement des organes sources et puits, les dosages de sucres non structuraux ont été réalisés en différenciant les feuilles ayant terminé leur expansion (source) des celles en expansion cachées dans les gaines des feuilles précédentes et en phase de croissance rapide (puits). De plus, pour initier une caractérisation moléculaire de ces processus, ces dosages ont été associés à l'analyse du niveau d'expression des gènes codant pour les invertases pariétales et vacuolaires dans ces mêmes organes, enzymes reportées comme représentatives de la force de puits des organes, notamment reproducteurs, dans différentes espèces (Liu *et al.* 2005; Trouverie and Prioul 2006).

De façon similaire à ce qui a été observé sous carence en P, sous stress hydrique les premières réponses de la plante sont un ralentissement de l'expansion foliaire et du tallage. La transpiration foliaire est réduite peu après au cours du dessèchement du sol. Le fonctionnement des puits aériens étant affecté avant celui des sources, le bilan carboné de la plante (teneur global en sucres non structuraux) a tendance à augmenter dans la plante pour des niveaux de stress modérés (les concentrations en sucre ayant tendance à augmenter dans tous les organes) puis les relations source-puits subissent de nouvelles modifications et des différences sont observées en fonction des types de sucre et d'organe. Un schéma conceptuel de la régulation de ces relations source-puits sous stress hydrique est présenté en Figure 1 (d'après Luquet *et al.* (2008a)):

- Les feuilles puits en expansion, tendent à recevoir plus de saccharose des feuilles sources dès l'établissement d'un stress modéré ; avec la réduction progressive d'expansion de ces feuilles et donc de leur demande en assimilats carbonés, ce saccharose est en partie stocké en amidon, réserve rapidement mobilisable lors d'un éventuel épisode de réhydratation; une autre partie est hydrolysée en hexoses, dont la concentration augmente en même temps que celle de l'amidon. L'augmentation de l'expression de la plupart des gènes codant pour les invertases vacuolaires et pariétales pour un stress modéré vient confirmer l'hydrolyse du saccharose en hexoses par ces enzymes, démontrant un maintien du fonctionnement de ces feuilles encore en croissance, même si réduite. Cette expression de gènes, ainsi que la concentration en hexoses résultante, s'atténue avec l'augmentation du stress et l'arrêt total d'expansion des feuilles et s'accompagne d'une augmentation de la mise en réserve des ressources sous forme d'amidon.
- Les racines reçoivent plus de saccharose, qu'elles utilisent pour le maintien de leur croissance et qu'elles ne stockent donc pas sous forme amidon.
- Les feuilles source ont tendance à garder des concentrations en saccharose constantes (limbes) voire augmentées (gaines, organes de transport vers les puits) ; elles stockent globalement moins d'amidon et augmentent leur concentration en hexoses, a priori impliqués dans l'ajustement osmotique et le maintien du fonctionnement de la feuille (Trouverie *et al.* 2004; Trouverie and Prioul 2006).

(3) Pertinence pour l'étude de diversité génétique

Il est intéressant de noter que, sous carence en P comme sous stress hydrique, des signaux abiotiques internes à la plante viennent modifier les relations source-puits en assimilats carbonés, notamment par un effet sur le fonctionnement des puits avant que le fonctionnement des organes sources soit affecté. Cela avait déjà été suggéré par différents auteurs (Shane *et al.* 2003, sous carence en P ; Liu 2004; Liu *et al.* 2004, sous stress hydrique). La plante vit ainsi une transition d'un état de limitation éventuelle par les ressources carbonées en conditions non stressées (la plante s'autorégulant en fonction de leur disponibilité) vers un état limité par les puits : la plante en vient à augmenter sa mise en réserve sous forme d'amidon, ce, jusqu'à ce que le système photosynthétique soit sévèrement affecté par un niveau de stress fort (Dingkuhn *et al.* 2006; Muller *et al.* 2011).

La ressource carbonée n'apparaît donc pas comme la ressource restrictive sous conditions de stress hydrique ou phosphoré ; elle s'avère cependant déterminante à étudier car elle joue le rôle de ressource charnière dans l'orchestration et la régulation du fonctionnement des différents puits et de la plasticité phénotypique résultante de la plante. Les sucres non structuraux s'avèreraient ainsi des marqueurs pertinents pour caractériser ces régulations et différencier des génotypes. Ce phénomène a récemment été discuté par Muller *et al.* (2011) pour différentes espèces sous stress hydrique et démontré par Pantin *et al.* (2011) chez *Arabidopsis*.

La modification de l'expression des gènes relatifs au métabolisme carboné peut également être envisagée comme une cible de caractérisation et amélioration des plantes, en vue d'optimiser leur stratégie d'adaptation à une contrainte environnementale et de maintenir les performances recherchées (Ji *et al.* 2005; Kim *et al.* 2000; Liu *et al.* 2004; Liu *et al.* 2005; Trouverie and Prioul 2006). Nos travaux semblent le confirmer (Luquet *et al.* 2008a), mais l'application de cette approche à un grand nombre de génotypes n'a pas pu être envisagée dans le cadre de nos projets jusqu'à maintenant.

La pertinence d'une discrimination génotypique sur la base des processus métaboliques mis en évidence ci-dessus s'est confirmée au travers de différentes études fonctionnelles sur de plus grands panels de génotypes (présentées plus en détail dans la partie suivante). Plusieurs de nos études ont démontré chez le riz une grande diversité de comportements relatifs à l'utilisation des sucres durant la phase végétative, d'une part sans conditions de stress (Luquet *et al.* In press; Rebolledo *et al.* Accepted in Rice ; Luquet *et al.* 2008c) et d'autre part sous stress hydrique (Rebolledo *et al.* Accepted in Rice) ou phosphoré (Ahmadi *et al.* in preparation; Ahmadi *et al.* 2008).

Notamment, durant sa thèse (qui sera soutenue en mars 2012), que j'ai encadrée dans le contexte du projet Orytage et Genphen Rebolledo *et al.* (Accepted in Rice) ont démontré sur 43 génotypes appartenant essentiellement au groupe japonica, que les génotypes se différenciant par leur vigueur végétative (exprimée ici en termes d'accumulation de biomasse durant la phase exponentielle de croissance de la plante, dépendante du tallage, du phyllochrone, de la taille des organes) se différenciaient également par leur comportement métabolique : les génotypes à forte accumulation de biomasse due à un fort taux de développement et tallage sont caractérisés par une faible mise en réserve des sucres sous forme d'amidon, de forts niveaux de saccharose dans les feuilles sources et d'hexoses dans les feuilles puits. Inversement les génotypes à grande feuille, qu'ils soient vigoureux ou non, sont caractérisés par de plus fortes mises en réserve de sucre sous forme d'amidon. Les

caractères phénotypiques ‘taux de développement’ (en °Cd⁻¹, 1/phyllochrome) et ‘taille de feuilles’ se sont avérés négativement corrélés, donc a priori en compétition pour les mêmes ressources, le taux de développement et le tallage étant les variables expliquant le mieux les différences de vigueur entre génotypes (Rebolledo *et al.* In press).

Ainsi sous conditions hydriques non restrictives, la diversité génétique des comportements morphogénétiques s’exprimerait aussi par une diversité des comportements métaboliques allant de la limitation par les puits (pour les génotypes stockant beaucoup d’amidon issu des sucres solubles inutilisés pour la croissance) à la limitation par les sources (pour les génotypes stockant peu de sucres au profit d’un développement et tallage rapide notamment). Un comportement extrême de limitation par les ressources carbonées avait pu être étudié chez un mutant de riz présentant un taux de développement très élevé (phyllochrome très court, donc une accélération des demandes en assimilats) comparé au type sauvage Nippon Bare (Luquet *et al.* 2007). Dans cette étude issue du post-doctorat de YH Song que j’ai supervisé, la forte limitation en assimilats carbonés du mutant, due à la fois à un (dé)régulation des sources (photosynthèse et efficacité de conversion moindre) et des puits (forte dominance apicale) s’est exprimée par une absence de tallage, une quasi absence de stockage d’amidon et une croissance racinaire réduite comparée à celle au niveau aérien, accompagnée par une réduction, au niveau des racines, de l’allocation des sucres et de l’expression des gènes codant pour les invertases.

Sous conditions de stress hydrique (‘dry-down’ depuis le stade « feuille 6 » du brin maître jusqu’à une FTSW de 0.2), l’étude des mêmes 43 génotypes de riz (Rebolledo *et al.* Accepted in Rice) a montré que l’accumulation de biomasse des plantules de riz à l’issue d’un stress hydrique dépendait à la fois de sa vigueur constitutive et de sa régulation au cours d’un stress. Cependant l’effet positif de ces deux composantes n’était pas facilement associé dans un même génotype, les génotypes constitutivement vigoureux présentant généralement une mauvaise tolérance et maintien de croissance sous stress hydrique. L’identification de marqueurs métaboliques pertinents pendant le stress s’est cependant avérée plus délicate : seule la remobilisation des réserves carbonées ainsi qu’un maintien des flux de saccharose vers les organes puits ont pu être mis en relation à un maintien de la croissance au travers des génotypes étudiés sous stress hydrique et contribuer à classer les génotypes (« clustering »). Il est à noter qu’en moyenne pour les 43 génotypes étudiés, la transition d’un état de limitation plutôt par les ressources carbonées sous conditions irriguées à une limitation par le fonctionnement des puits sous stress (Luquet *et al.* 2008a; Muller *et al.* 2011) a pu être confirmée : le bilan carboné global de la plante était en effet meilleur sous stress hydrique.

Caractériser l’orchestration des mécanismes source-uits par des marqueurs métaboliques (sucres) et morphogénétiques semble une porte d’entrée pertinente pour discriminer des génotypes puis modéliser les interactions GxE constituant la vigueur végétative, sa plasticité phénotypique et en étudier les bases génétiques. L’amidon semble être un marqueur particulièrement intéressant pour discriminer des comportements de vigueur végétative et de tolérance au stress.

(4) Limites actuelles du travail

La principale limite à ce travail analytique et un enjeu fort pour l'avenir de ces recherches sera une prise en compte plus complète des composantes du fonctionnement des sources et des puits en assimilats carbonés au travers des géotypes étudiés. Notamment, l'acquisition de la ressource carbonée (interception du rayonnement, assimilation carbonée) ainsi que le fonctionnement de puits secondaires tels que la respiration de croissance devront être appréhendés. Cela reste aujourd'hui difficile lorsqu'un grand nombre de géotypes est adressé mais il sera incontournable de caractériser la diversité génétique au niveau de ces processus clés des relations source-uits. Ce sera progressivement facilité par les progrès des plateformes de phénotypage et d'imagerie (notamment pour l'interception de la lumière) ; les processus physiologiques tels que l'assimilation carbonée et la respiration restent délicats à mesurer sur un grand nombre, ce qui représentera un enjeu majeur pour le futur.

b) Développement et application du modèle Ecomeristem

(1) Positionnement de l'outil dans la communauté internationale de modélisation des plantes

La conceptualisation et le développement informatique du modèle Ecomeristem ont été initiés fin 2003 avec l'élaboration d'un prototype en langage Matlab. Le développement informatique du modèle ainsi que de sa plateforme hôte (Ecophen) en langage Delphi a été réalisé par un post-doctorant (L. Tambour) que j'ai supervisé entre 2004 et 2006. Par la suite, le recrutement d'un informaticien en CDI a permis de pérenniser les nécessaires interactions entre informatique et conceptualisation de modèle(s) écophysiologique(s).

Devant la nécessité d'une approche plante entière permettant d'appréhender l'orchestration des mécanismes source-uits constituant la morphogénèse, sa diversité génétique et sa plasticité phénotypique, les modèles de cultures classiques s'avèrent insuffisants. Ces derniers sont en général fondés sur des processus de croissance et développement et des normes de réaction à l'environnement à l'échelle du couvert (Bouman *et al.* 2001; Brisson *et al.* 1998). Récemment, des efforts ont été fournis pour améliorer ces modèles dans leur prise en compte de processus plus fins, donc plus simples génétiquement et mieux à même de différencier des géotypes. C'est notamment le cas du modèle APSIM (Chenu *et al.* 2008; Chenu *et al.* 2009; Hammer *et al.* 2010). APSIM a ainsi été revisité pour prendre en compte la croissance d'organes élémentaires (feuilles, talles). C'est aussi le cas du modèle Sirius (Bertin *et al.* 2010) prenant en compte les GxE intervenant dans les teneurs en protéines du grain. Dans tous les cas, transparaît la nécessité de rapprocher les formalismes de ces modèles de culture au fonctionnement des organes et des méristèmes pour leur permettre de mieux prendre en compte les GxE (Chenu *et al.* 2008; Dingkuhn *et al.* 2005; Hammer *et al.* 2005). En parallèle, durant la dernière décennie, une nouvelle école de modélisation est née, dite FSPM ('Functional Structural Plant Modeling' ; Vos *et al.* 2010). Ces modèles ont pour concept fondateur de simuler les rétroactions entre le développement architectural de la plante à l'échelle de l'organe et leur fonctionnement en réponse à leur environnement. Ces modèles sont donc structurellement mieux adaptés à prendre en compte les mécanismes où

s'inscrivent les GxE ; cependant leur utilisation dans un contexte d'études génétiques pâtit encore de leur complexité.

C'est dans ce courant de modélisation FSPM et cet enjeu d'équilibre, entre simplicité de modèle et nécessité de considérer les interactions GxE, que s'inscrit le développement du modèle Ecomeristem. Nous détaillerons ici la version du modèle développé pour la phase végétative des graminées, avec le riz comme plante modèle.

(2) Description de l'outil et ses concepts

Ecomeristem est un modèle simulant journallement la morphogénèse de la plante entière à l'échelle de l'organe et dans son peuplement. La morphogénèse de la plante est simulée en termes de topologie (organisation hiérarchique et temporelle et dimension des organes) ; la géométrie de la plante n'est pas simulée par défaut mais est devenue une option dont nous reparlerons plus loin (Soulie *et al.* 2010). Ecomeristem formalise de façon simple le fonctionnement des méristèmes, rythmant l'initiation, l'expansion et le dimensionnement des organes de façon variable selon le génotype et sa régulation par le statut nutritionnel de la plante (normes de réaction). La plante génère ainsi des organes en croissance et donc des demandes en assimilats carbonés notamment.

Cette demande est essentiellement contrôlée par 3 paramètres génotypiques : le phyllochron (égal au plastochron chez le riz ; °Cd), un taux d'accroissement potentiel du méristème (*MGR*, Meristem Growth Rate, cm) traduit en un taux d'accroissement potentiel de la taille finale des feuilles successives sur une talle donnée ; le phyllochron (durée) et le *MGR* (taille) permettent de définir un taux d'expansion de la feuille, traduite en biomasse par une fonction calculant, pour un rang de feuille donné, son épaisseur (*SLA*, Specific Leaf Area, fonction d'un paramètre génotypique *SLA_p* ; Luquet *et al.* 2007). La demande journalière en assimilats carbonés des racines est représentée un pool unique, proportionnel à la demande aérienne et au stade de développement de la plante.

Selon l'offre journalière en assimilats carbonés pour la plante, calculée sur la base d'une approche 'big leaf' utilisant un coefficient extinction du rayonnement (*K_e*) et de conversion en assimilats carbonés (*ε_b*), une variable d'état interne à la plante est calculée : l'*I_c*. L'*I_c*, est indice de compétition interne, ratio entre l'offre et la somme des demandes journalières de la plante en assimilats carbonés. L'*I_c* intervient comme un régulateur du fonctionnement des méristèmes, les génotypes différant dans leur sensibilité à ce 'proxy' de la disponibilité en sucres, telle que suggéré dans nos travaux sous différentes conditions environnementales (Dingkuhn *et al.* 2006; Luquet *et al.* 2008a; Luquet *et al.* 2005a) et dans d'autres travaux (Liu *et al.* 2004; Rolland *et al.* 2006; Shane *et al.* 2003; Trouverie and Prioul 2006). L'*I_c* affecte les relations source-puits via des normes de réaction agissant sur des processus de croissance (journaliers) et de développement (programmés le phyllochron) tels que :

- Si $I_c \geq 1$, les organes nouvellement initiés sont dimensionnés à leur potentiel génotypique (via *MGR* et la taille de la feuille précédente) et la croissance des organes en expansion est réalisée sans régulation. Le surplus d'assimilats non utilisé pour la croissance est stocké dans un pool de réserves carbonées unique pour la plante entière.

- Si $I_c < 1$, la taille des organes nouvellement initiés est régulée proportionnellement au déficit en assimilats (facteur appliqué à MGR); les réserves carbonées sont mobilisées pour assouvir les demandes des organes en expansion. Si cela est insuffisant, la croissance des organes est ralentie et la sénescence des plus vieilles feuilles accélérée.
- Si $I_c > I_{ct}$ (I_{ct} étant un paramètre génotypique définissant un seuil d' I_c permettant le tallage et quantifiant la propension au tallage d'un génotype donné vs sa propension à stocker des assimilats carbonés, tels que décrit dans la partie précédente), chaque talle de plus de 4 feuilles peut créer une talle ; Sinon le tallage est inhibé.

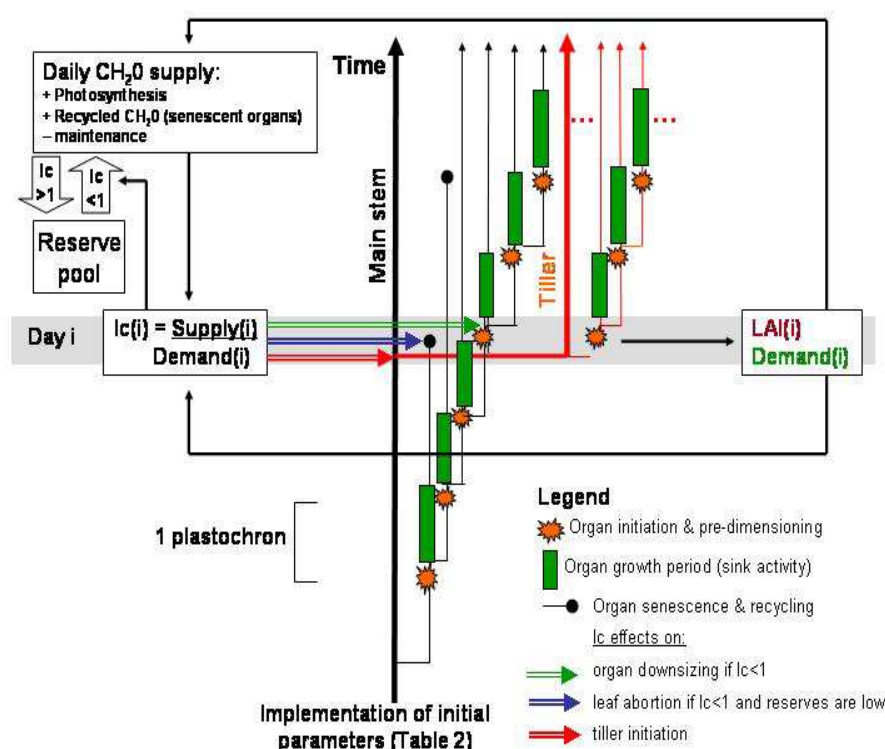


Figure 3 : Schéma conceptuel des processus source-puits contrôlant la morphogénèse de la plante de graminée durant la phase végétative, sous conditions non stressées.

Le modèle combine ainsi la possibilité de représenter la diversité des comportements morphogénétiques présents dans une espèce ainsi que leur plasticité phénotypique, en tenant compte de la propension à plus ou moins mettre en réserve des assimilats ou de plus ou moins grande sensibilité à leur disponibilité.

Cependant les formalismes de base du modèle restent relativement simples ce qui laisse possible une application pour le phénotypage comme nous le verrons plus loin.

Le modèle Ecomeristem ainsi élaboré s'est avéré suffisamment générique pour s'adapter au sorgho et à la canne à sucre. Pour la phase végétative de ces deux espèces des formalismes ont été intégrés pour simuler l'expansion des entrenoeuds et la mise en réserve d'assimilats carbonés dans chacun d'eux en fonction de leur état (croissance ou maturité) et de la capacité génotypique de stockage (Luquet *et al.* 2010 ; pour la canne à sucre).

La nature modulaire du modèle et de sa plateforme de simulation permet par ailleurs un couplage facile avec des outils mathématiques (sous le logiciel R notamment : optimisation de paramètres grâce à des algorithmes, notamment génétiques, analyse de sensibilité du modèle ; tels que développés dans le cadre du projet DELICAS ou dans le contexte du groupe de travail Mexico, www.reseau-mexico.fr, sous R également) ou d'autres modèles tels que les modèles 3D de plantes fournis par la plateforme OpenAlea (Figure 4 ; Soulié *et al.* 2010). Ce couplage avec des représentations 3D des plantes s'inscrit dans une dynamique relativement récente de collaboration avec l'équipe responsable de la plateforme OpenAlea (Pradal *et al.* 2008) ; l'objectif de ce couplage de modèle est de pouvoir intégrer les caractères architecturaux dans l'analyse des relations source – puits et de leur GxE. Nous reviendrons sur cet aspect dans le projet de recherche.

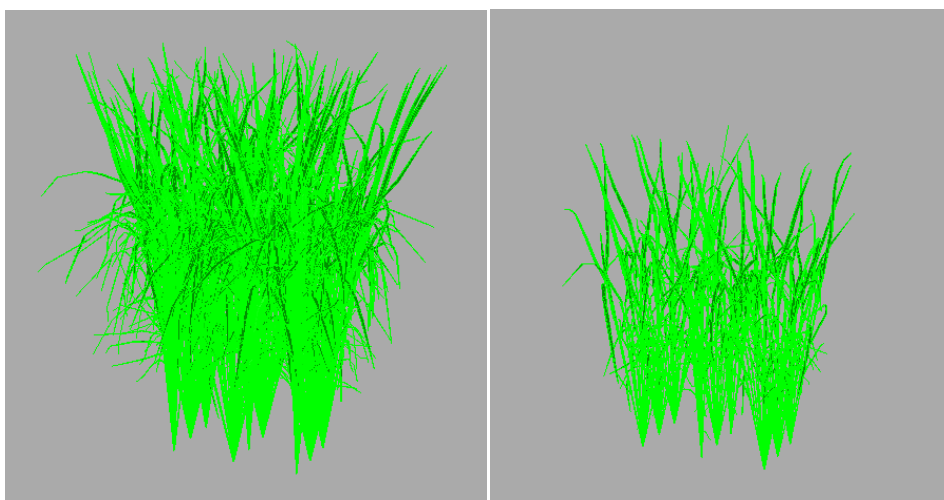


Figure 4 : représentation 3D de plantes simulées par Ecomeristem après 40 jours de croissance pour 2 valeurs du paramètre phyllochrone différentes, gauche : 45 et droite : 75°Cd. Les plantes simulées dépendent d'une boucle de rétroaction journalière entre les mécanismes de fonctionnement des organes puits (dimensionnement, expansion, tallage) et source (efficacité de conversion du rayonnement en biomasse) par Ecomeristem et le calcul d'une interception du rayonnement par les modèles de Chelle and Andrieu (1998) disponibles dans la plateforme OpenAlea. Elles sont représentées grâce à une banque d'organes végétaux disponibles également dans la plateforme OpenAlea.

Sur la base des travaux réalisés sur la régulation des relations source-uits du riz sous stress hydrique en phase végétative (Luquet *et al.* 2008a), le modèle a été adapté pour prendre en compte cette contrainte. Un bilan hydrique simple permet le calcul de la FTSW journalière. La transpiration foliaire (Tr) est calculée à l'échelle du couvert par un coefficient de culture type FAO 56. Celle-ci est régulée par la FTSW à partir d'un niveau de stress seuil dépendant du génotype à partir duquel elle va décroître avec la disponibilité en eau (Pellegrino *et al.* 2004). Le rapport $Tr_{Reel}/Tr_{potentiel}$ intervient alors pour réguler l'assimilation carbonée et l'enroulement foliaire sur la base de paramètres qui peuvent être dépendants du génotype. La FTSW a également un impact direct sur la réduction de l'expansion foliaire via un paramètre seuil et une fonction de réponse similaire à la transpiration foliaire.

(3) Pertinence des concepts dans une démarche d'exploration de la diversité génétique et d'idéotypes

Le modèle Ecomeristem 'stade végétatif' ainsi que ses concepts fondateurs ont été validés dans un certain nombre de conditions et pour un certain nombre de génotypes (Dingkuhn *et al.* 2006; Luquet *et al.* 2008b; Luquet *et al.* 2006; Luquet *et al.* 2007). Le modèle a d'autre part été utilisé dans différentes études en vue d'appuyer l'approche expérimentale pour comprendre les mécanismes source-puits sous-jacents à la diversité et plasticité des phénotypes : par exemple pour comprendre le comportement de mutants chez le riz (Luquet *et al.* 2007) ou étudier la diversité de comportements rencontrés dans un groupe de variétés (chez le sorgho dans le cadre de la thèse de Kim (2008); et chez le riz dans le cadre de la thèse de MC Rebolledo).

Ces études ont pu démontrer l'intérêt de l'approche pour tester des hypothèses fonctionnelles, explorer des comportements, tout autant que sa pertinence pour représenter la plasticité phénotypique et la diversité génétique. Ainsi dans le contexte du projet Orytage et en appui à la thèse de MC Rebolledo, le modèle a été utilisé pour explorer le rôle du phyllochron ou de son inverse DR (Development Rate, °Cd⁻¹) dans l'orchestration des relations source-puits et la définition de la vigueur végétative (Figure 5 ; Luquet *et al.* In press). Outre la démonstration par analyse de sensibilité que DR était le paramètre le plus influant sur la production de biomasse de la plante, le modèle a retraduit les relations i) positives entre DR et l'accumulation de biomasse (Figure 5ab) et ii) négatives entre DR et le stockage d'assimilats carbonés (Figure 5c), telles que trouvées expérimentalement Figure 6). Le modèle confirme que les plantes à fort DR tendent à être limitées par la ressource carbonée plus rapidement (avec un taux de croissance qui atteint plus vite un plateau du fait d'une compétition intra et inter plante pour ces ressources qui s'installe plus rapidement) et que cette limitation peut devenir pénalisante, avec un feedback négatif sur l'apparition des feuilles (allongement du phyllochrone), le tallage, la sénescence des feuilles et les réserves en assimilats carbonés (Figure 5def).

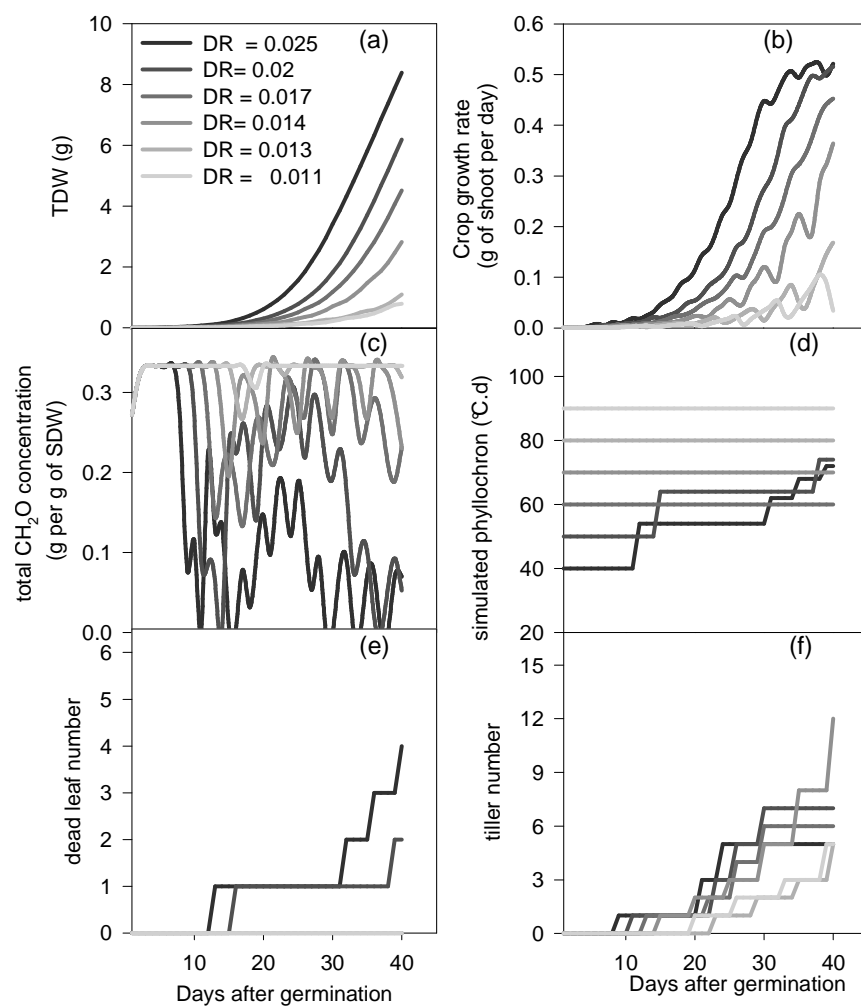


Figure 5 : Simulation dynamique de la biomasse sèche totale (TDW, a), du taux de croissance de la partie aérienne (CGR, b), de la concentration en carbohydrates dans la partie aérienne (CH_2O , c), du phyllochrone simulé (d), du nombre de feuilles mortes (e) et du nombre de talles (f) pour six valeurs de taux de développement (DR, $^{\circ}\text{C} \cdot \text{d}^{-1}$) ; d'après pour des plantes cultivés en conditions non limitées en serre, à une densité de 30 plantes par m^2 (Luquet *et al.* In press).

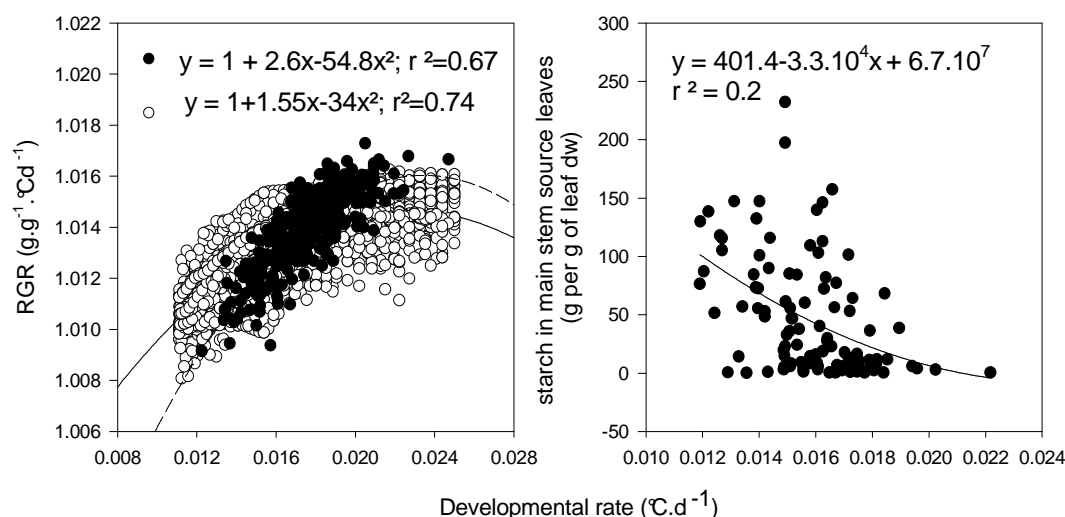


Figure 6 : Relation entre le taux de développement (inverse du phyllochrone, °C.d⁻¹) et (gauche) le taux de croissance relatif de la partie aérienne, Relative Growth Rate (RGR, g.g⁻¹.°Cd⁻¹) : (droite) la concentration en amidon dans la plus jeune feuille ligulée du brin maître. Symboles blancs: au travers des simulations réalisées dans le contexte d’une analyse de sensibilité du modèle Ecomeristem (Luquet *et al.* In press); Symboles noirs: pour des plantes individuelles étudiées dans 2 répétitions sur des génotypes de riz japonica (Rebolledo *et al.* In press) (gauche: 200 génotypes; droite: 43 génotypes étudiés pour les sucres).

Les concepts du modèle Ecomeristem permettent de représenter la multiplicité et plasticité des comportements source-puits rencontrés au travers de la diversité génétique du riz ; cela en fait un outil pertinent et novateur pour appuyer l’exploration d’idéotypes « plante entière » et le phénotypage

c) Développement et application de méthodologies de phénotypage

Sur la base des recherches et concepts développés dans les parties a- et b- des approches de phénotypage de la morphogénèse végétative et de sa plasticité via la régulation des relations source-puits ont été progressivement élaborées et appliquées.

Un des enjeux majeurs a été de permettre l’application au phénotypage du modèle Ecomeristem i.e. d’extraire, pour chaque génotype au sein d’une collection ou population, un jeu de paramètres synthétisant le comportement source-puits pour les assimilats carbonés, que ce soit sous conditions non stressées (Luquet *et al.* 2008c) ou sous contraintes abiotiques (P ; Ahmadi *et al.* in preparation; Ahmadi *et al.* 2008) ; eau (études en cours en parallèle de la thèse de MC Rebolledo).

Pour cela les plantes à phénotyper doivent être physiquement caractérisées par des mesures discrètes de la croissance et du développement de la plante. Ces mesures concernent typiquement : le nombre de talles, de feuilles mortes et vivantes, l’indice d’Haun (Haun

1973), longueur et largeur voire biomasse sèche de la première et dernière feuilles sur le brin maître, biomasse de la partie aérienne et si nécessaire et possible (par exemple en conditions hydroponiques) des racines ; ce, au minimum en fin d'expérimentation pour les mesures destructives, mais préférablement à deux dates pour les mesures non destructives). Ces données constituent alors un fichier cible pour les simulations du modèle afin d'optimiser la valeur de ses paramètres permettant de simuler la plante observée dans différentes répétitions ou traitements (cf. méthodes d'optimisation de paramètres mentionnées précédemment). L'environnement de croissance des plantes doit être caractérisé journalièrement en termes de température de l'air et rayonnement photosynthétiquement actif (PAR) a minima, ETP et teneur en eau du sol s'il s'agit d'un stress hydrique.

Les plantes sont alors caractérisées par les paramètres relatifs au fonctionnement (normes de réaction) des 'puits' : MGR, Ict, phyllochrone, épaisseur structurale des feuilles (SLAp). Les paramètres relatifs au fonctionnement des sources (Ke, ϵ_b , respectivement efficience d'interception de la lumière et de conversion en assimilats carbonés) sont plus délicats à optimiser car leur estimation pertinente exigerait de pouvoir séparer leur impact propre sur la disponibilité journalière en assimilats carbonés ; cela impliquerait des mesures pour caler ces paramètres, notamment des mesures d'interception du rayonnement ou d'architecture. Aussi, ϵ_b est généralement optimisé comme un paramètre synthétique d'acquisition de la ressource carbonée. Cela renforce la nécessité mentionnée dans les parties précédentes d'adresser les relations source-puits en assimilats carbonés de façon plus exhaustive, en incluant l'assimilation carbonée, l'efficience d'interception de la lumière ainsi que les pertes par respiration; ces facteurs étant par ailleurs des points clés de régulation du fonctionnement de la plante par l'environnement.

Ce point d'ombre n'a été que partiellement levé en associant cette approche à des dosages de sucres dans les organes source et puits (feuilles notamment), indicateurs des forces de puits, de la disponibilité des ressources carbonées et de la prédisposition à stocker ou utiliser les assimilats carbonés. Les sucres permettent une caractérisation plus fonctionnelle des paramètres source-puits relatifs à la vigueur de la plante (Luquet *et al.* 2008c). Toutefois, cela pose le problème du nombre d'échantillons à analyser en laboratoire actuellement. Outre faire appel à des plateaux de métabolisme tels que proposés par des collègues (plateforme Métabolome-Fluxome de l'INRA de Bordeaux), des solutions sont à explorer et feront partie de mon projet de recherche.

L'application de cette démarche sous stress hydrique nous a par ailleurs menés à mettre en place un système de suivi du niveau de stress et de la transpiration des plantes au cours d'un processus de dessèchement du sol ou « dry down » (Luquet *et al.* 2008a ; Rebolledo *et al.* 2009). Cela s'est inscrit dans la thèse de MC Rebolledo lors de deux expérimentations en serre en conditions climatiques contrastées : Montpellier en 2009 et les Philippines (IRRI) en 2010 (projet GenPhen). Les plantes alors cultivées en pots, suffisamment petits pour gommer des différences variétales au niveau de l'enracinement, sont pesées soit en continu soit bi-journalièrement pour estimer la FTSW (connaissant la quantité de sol dans le pot et ses propriétés hydrauliques : point de flétrissement et capacité au champ) et l'eau perdue par transpiration foliaire (la surface des pots étant recouverte pour empêcher toute perte d'eau par évaporation ; Figure 7). Il est ainsi possible notamment d'estimer un seuil de réponse de la transpiration des plantes au niveau de stress hydrique (Rebolledo *et al.* 2009).



Figure 7 : dispositif expérimental en serre (CIRAD, Montpellier) pour le phénotypage des relations source – puits en assimilats carbonés sous-jacents à la vigueur au départ du riz et leur régulation par le stress hydrique.

La thèse de MC Rebolledo a initié la mise en œuvre de ce dispositif avec l'étude de 200 génotypes de riz japonica. Les analyses phénotypiques à l'aide de modèles (Ecomeristem pour les relations source-puits « plante entière » et l'équation de réponse de la transpiration foliaire) sont encore en cours (des résultats issus des analyses sans stress hydrique ont été présentés dans la Figure 6) et les études génétiques sur cette base ne seront réalisées qu'en 2012 (selon la disponibilité des cartes génétiques avec des marqueurs SNP).

Un « proof of concept » de l'utilisation du modèle Ecomeristem en appui au phénotypage avait été donné dans le cadre du phénotypage d'une population de recombinants de riz (Single Seed Descent, SSD) issue du croisement entre un japonica (Azucena) et un indica (IR64). Les paramètres du modèle Ecomeristem avaient alors été optimisés pour caractériser la vigueur végétative et sa régulation par une carence en P (dans un système hydroponique ; (Ahmadi *et al.* in preparation; Ahmadi *et al.* 2008). Les QTLs détectés par les paramètres de modèle s'étaient avérés co-localiser avec ceux détectés par les variables correspondantes mesurées (eg. paramètre Ict et nombre de talles mesuré), mais étaient plus nombreuses et détectaient des loci non détectées par les mesures directes, pour certaines identifiées dans la littérature dans d'autres conditions environnementales et sur d'autres fonds génétiques. Les paramètres du modèle seraient donc à même de mieux d'affranchir des effets de l'environnement et des compensations existantes entre caractères composant la vigueur végétative et sa plasticité. Ces résultats étaient cependant préliminaires et l'intérêt de l'approche reste à confirmer sur un jeu de données plus complet tel que celui issu de la thèse de MC Rebolledo.

Les méthodes développées ont pour originalité de proposer le phénotypage des processus source-puits constituant la morphogénèse de la plante entière et sa plasticité. Elles combinent notamment l'utilisation du modèle Ecomeristem et des dosages de sucre dans les organes source et puits. La mise en œuvre d'une telle approche intégrée devra, dans le futur, profiter aux/des plateaux et réseaux de phénotypage : métabolomique, phenoarch, Diaphen pour la France, et le réseau du GRiSP (Global Rice Science Partnership) du CGIAR (Groupe Consultatif International de Recherche Agricole)

2. Bases génétiques et environnementales des mécanismes constituant l'accumulation de sucre chez les graminées sucrées et sa combinaison à une production de grain

La démarche intégrée présentée dans la partie I-B-1 pour la thématique de la vigueur au départ a plus récemment été extrapolée à l'étude des déterminants génétiques et environnementaux des performances des plantes pour la production de sucre et sucre – grain (double usage). Cela est en cours via deux projets:

- le Projet DELICAS (ANR Genoplante), initié en 2009 et visant à identifier des marqueurs moléculaires associés à des gènes contrôlant les composantes de l'élaboration du rendement sucrier chez la canne ; dans ce projet, ma mission a été l'adaptation du modèle Ecomeristem à la canne à sucre, donc de formaliser les processus de dimensionnement, croissance et accumulation de sucre des entrenoeuds et leur régulation en fonction du génotype et de l'environnement photo-thermique, vers son application au phénotypage. Le modèle a été récemment adapté (Luquet *et al.* 2010) et son analyse de sensibilité et aptitude à discriminer des génotypes seront publiées en 2012. Son application au phénotypage (dans le cadre d'une thèse ayant débuté en 2010) sur des données acquises au champ sur 200 génotypes de canne à sucre sur deux sites à la Réunion (UMR PVBMT and UR SCA du CIRAD) sera initiée au deuxième semestre 2012.
- le projet européen Sweetfuel, visant à développer des variétés de sorgho pour la production de biocarburant notamment de première génération et à double usage (grain – sucre). Dans ce projet initié en 2009, j'ai pour mission jusqu'en 2013 de coordonner le WP4 (Analyse fonctionnelle des caractères d'adaptation et de productivité).

C'est dans le contexte du projet Sweetfuel que je suis jusqu'à mars 2012 (période de sa soutenance) l'encadrant principal de la thèse de Sylvain Gutjahr dont l'objectif est l'analyse fonctionnelle des caractères (de nature écophysiologique, phénologique, morphologique, métabolique, enzymatique) constituant l'accumulation de sucre dans les tiges de sorgho et sa

compétition avec le remplissage du grain. Il s'agit d'identifier les GxE relatifs à ces caractères en réponse à la photopériode, aux conditions photo-thermiques et au stress hydrique. Cette thématique étant pour moi un objet de recherche beaucoup plus récent (démarré en 2009), les étapes de modélisation et d'application au phénotypage sont encore en chantier et prévus pour 2012. En particulier une expérimentation avec l'Embrapa («Maize and Sorghum », Sete Lagoas (Brésil), partenaire du projet) sera organisée pour phénotyper une population de lignées recombinantes (sans contraintes environnementales). L'idée est d'étoffer le protocole déjà utilisé à l'Embrapa avec des caractères identifiés lors des analyses écophysiologiques réalisées dans le contexte de la thèse de Sylvain (décrites ci-dessous).

Il est à noter que l'enjeu pour ces plantes sucrières de grande taille, que ce soit canne ou sorgho, est la nécessité d'un phénotypage au champ ou du moins la très grande difficulté d'un phénotypage en milieu (semi) contrôlé, impliquant des moyens et méthodes appropriés, ce sur quoi nous reviendrons dans le projet de recherche.

Les analyses fonctionnelles écophysiologiques réalisées par Sylvain se sont appuyées sur une combinaison d'expérimentations en serre à Montpellier et au champ au Mali (2009-2010). Les résultats démontrent la très forte plasticité du rendement en sucre des tiges de sorgho, du fait de forts GxE impliqués dans le processus global d'accumulation de saccharose à différents stades de développement de la plante ou de ses organes.

Notamment, les résultats en serre sur un génotype de sorgho potentiellement sucré (IS2848), étudié dans sa version fertile (B) et stérile (A ; pas de remplissage du grain mais phénotype totalement similaire au fertile par ailleurs) ont démontré la forte plasticité de ce caractère en réponse à la photopériode (12 vs. 13h, la plante initiant plus rapidement la panicule pour des jours courts donc à 12h de photopériode), ainsi que le faible niveau de compétition existant avec le remplissage du grain (Gutjahr *et al.* (c); Gutjahr *et al.* 2010). Le processus d'accumulation de sucre dans les entrenoeuds commencerait pour un entrenoeud donné à la fin de son expansion. Cela serait indépendant de la phénologie de la plante entière et dépendrait de la phénologie propre à l'entrenoeud. L'indépendance avec la phénologie de la plante était jusqu'à maintenant controversée, certains auteurs suggérant une synchronisation (McBee and Miller 1982) d'autres un démarrage de l'accumulation avant floraison (Hoffmann-Thoma *et al.* 1996). Ces controverses sont certainement dues aux différences de conditions photopériodiques dans ces travaux ainsi que de la sensibilité des génotypes étudiés à ces conditions.

La controverse concernait aussi jusqu'à aujourd'hui le niveau de compétition entre l'accumulation de saccharose dans les tiges et le remplissage du grain (McBee and Miller 1982; Ritter *et al.* 2007; Vietor and Miller 1990). Dans notre étude, avec une phase végétative plus courte (sous 12h de photopériode), les entrenoeuds ont continué à accumuler du saccharose après floraison, même si le passage à la phase reproductive a induit un net ralentissement voire un arrêt (durant le remplissage du grain pour les entrenoeuds du haut de la plante fertile B notamment) de ce processus d'accumulation (Figure 8).

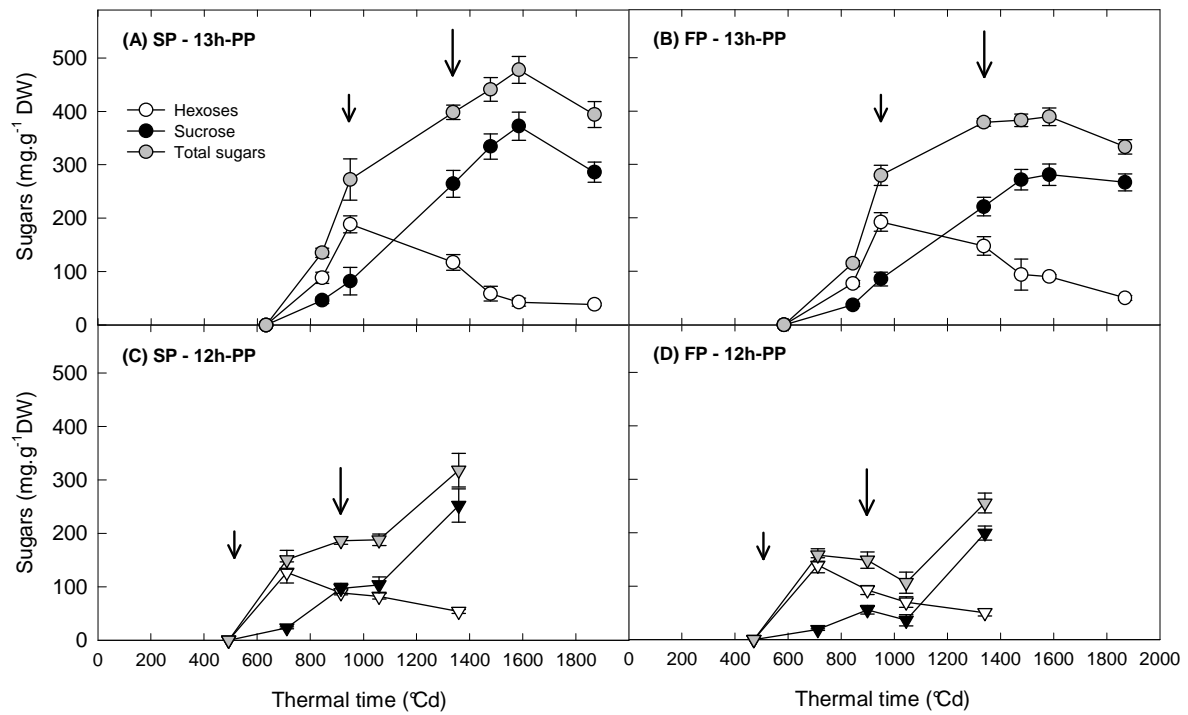


Figure 8 : concentrations en saccharose (sucrose), hexoses et sucres totaux au cours du développement de la plante (exprimée en fonction du temps thermique (°Cd) écoulé depuis le semis) en moyenne dans les tiges principales du génotype IS2848 dans sa version stérile (SP) et fertile (FP) sous 13h (13h-PP) et 12h (12h-PP) de photopériode, en serre à Montpellier (éclairage d’appoint avec des lampes halogènes). Moyennes et erreurs standards sur 3 répétitions (plantes). Les flèches noires verticales indiquent l’occurrence de l’initiation paniculaire et de la floraison (d’après Gutjahr *et al.* (c)).

Que ce soit sous 12 ou 13h de photopériode, la quantité de sucre accumulée dans les panicules de la version fertile du génotype ne s’est pas retrouvée dans les tiges du stérile (Gutjahr *et al.* (c)). L’accumulation de saccharose dans la tige chez le sorgho serait donc indépendante de la phénologie reproductive de la plante et les deux processus présenteraient un niveau de compétition relativement faible pour les assimilats carbonés. Cela renforcerait l’idée que le sorgho sucré est comparable physiologiquement à la canne à sucre et serait donc un modèle génétique intéressant pour cette dernière, génétiquement plus complexe (Ritter *et al.* 2004). Cependant la durée du cycle apparaît comme un processus clé dans l’élaboration des rendements en saccharose chez le sorgho (Figure 1). **L’opportunité pour le développement de sorgho double usage, basé sur une faible compétition grain / saccharose et la durée de la phase végétative, s’avérerait réelle.**

Dans le cadre de la même thèse, une étude a été menée au champ au Mali sur 14 génotypes de sorghos africains contrastant en termes de taille de plante, jutosité, photosensibilité et phénologie et étudiés sous trois dates de semis et dans des environnements photo-thermiques contrastés. Cette étude offrait une gamme large de GxE relatifs à l'accumulation de sucre dans les entrenoeuds au sein du patron phénologique et morphogénétique de la plante et donc à sa compétition potentielle avec l'accumulation de biomasse structurale et le remplissage du grain (Gutjahr *et al.* (b); Gutjahr *et al.* (a)). Il a été démontré que la compétition entre l'accumulation de saccharose dans les tiges et le remplissage du grain, d'une part, et la croissance en biomasse structurale d'autre part, était réelle mais non limitante quant à l'utilisation du sorgho pour une double production grain / sucre. La sensibilité à la photopériode s'est avérée un avantage car les sorghos photosensibles sont capables, pour des dates de semis précoces, d'accroître de façon considérable la taille de la plante et donc la quantité de jus et de sucre produits tout en maintenant un rendement en grain.

Le sorgho sucré photopériodique est donc un candidat potentiel pour la production combinée de grain et de sucre dans les tiges. Du fait de la bonne tolérance générale du sorgho au stress hydrique, il est particulièrement intéressant dans les régions sujettes aux épisodes de sécheresse ou pour l'utilisation de sols marginaux, ce pour quoi il pourrait aussi s'avérer un candidat potentiel de substitution à la canne à sucre.

Le modèle Ecomeristem est actuellement adapté pour formaliser ces interactions GxE et explorer des idéotypes de sorgho double usage. Cela fera partie intégrante de mon projet de recherche.

L'étude des forces de puits et de leurs interactions au sein de la plante entière est cruciale pour comprendre les GxE sous jacents aux performances de la plante ; cela s'avère d'autant plus pertinent que les performances ciblées sont complexes (pluri-usage) : dans le cas du sorgho sucré, l'opportunité d'un sorgho double usage grain / sucre a été démontrée par le faible niveau de compétition entre ces deux puits pour les assimilats carbonés et la possibilité de jouer sur la durée de la phase végétative (via la photosensibilité du sorgho) pour augmenter la taille des plantes et donc des rendements en sucre sans affecter les rendements en grains.

II. Projet de recherches

A. Synthèse critique du bilan de recherche

Mon bilan de recherche s'articule autour de l'analyse des interactions GxE sous-jacentes à la morphogénèse de la plante entière et sa plasticité phénotypique, ce, appliquée aux graminées tropicales. L'intégration de l'expérimentation écophysiological (associée aux analyses métaboliques), la modélisation et l'application au phénotypage a démontré sa pertinence. Cette approche offre un socle solide pour son application à de nouvelles thématiques de recherche nécessitant l'étude des relations source-puits dans la plante entière.

Certaines composantes de cette approche intégrée devront cependant être plus particulièrement améliorées ou approfondies, notamment :

- Les relations source-puits doivent être appréhendées de façon plus exhaustive via la prise en compte notamment de l'assimilation carbonée et la respiration (croissance, maintenance, Balota *et al.* 2010; Flexas *et al.* 2006) ; l'architecture de la plante pour mieux considérer en particulier l'efficacité d'interception de la ressource lumineuse. Cela est valable pour les études expérimentales et la modélisation.
- Concernant la modélisation, les collaborations en plein essor avec l'équipe Virtual Plant de l'UMG AGAP (plateforme OpenAlea) seront cruciales afin de faciliter le couplage des modèles existants ou à développer et de formaliser *in silico* les feedbacks entre structure et fonction de la plante et leur répercussion sur les relations source-puits (connexion entre les modèles architecturaux, d'interception du rayonnement, de photosynthèse etc, (Soulié *et al.* 2010).
- Les interactions avec des équipes travaillant à l'échelle tissulaire et méristématique (histo-cytologie, anatomie ; laboratoire PHIV de l'UMR AGAP) devront être intensifiées afin de relier des processus biologiques à des échelles biologiques différentes (tissu, organe, plante) et comprendre leurs relations physiologiques et/ou génétiques. Cela permettra d'affiner la nature des caractères à considérer pour l'étude génétique des performances de la plante et la définition d'idéotypes (eg. phénotypage de la taille du méristème vs celle des feuilles ; anatomie des entrenœuds vs capacité de stockage de saccharose ou composition de la biomasse).
- Certaines limitations techniques (homogénéité et/ou fiabilité des conditions environnementales dans les serres) ont parfois pénalisé les résultats expérimentaux obtenus durant ces 9 dernières années, notamment concernant le phénotypage à grande échelle (en serre notamment champ). Il s'agira de profiter de plus en plus des plateformes de phénotypage telles que PhenoArch, Diaphen ainsi que les plateaux de métabolomique permettant notamment des analyses de teneur en sucre notamment en haut débit.

B. Une volonté de s'inscrire dans le développement de cultures pluri-usage : pertinence du sorgho

Nos partenaires du sud comme du nord (par exemple, l'Embrapa au Brésil, ICRISAT en Inde, certaines entreprises privées en France et dans le monde) sont de plus en plus concernés par la production de matière végétale à même de générer, par transformation, une source d'énergie alternative au pétrole (pour la production de biocarburant essentiellement, mais aussi de bioplastique, biomatériaux, biogaz). Cette dynamique a récemment pris une réelle dimension nationale et internationale et depuis 3 à 4 ans, de plus en plus d'appels d'offres prennent cette orientation (cf. projet Sweetfuel discuté dans le bilan de recherche). Le challenge est tel que la recherche de sources de biocarburants de deuxième génération est aussi en plein essor (i.e. produits à partir de la biomasse fibre par des procédés moins au point que pour les biocarburants de première génération produits à partir des sucres solubles (sorgho, canne à sucre, www.fao.org/bioenergy/52182/fr).

La compétition avec les cultures à vocation alimentaire (animale ou humaine) reste un enjeu important et, outre l'utilisation de cultures à pluri-usage telles que le sorgho sucre/grain (cf. le projet Sweetfuel), l'utilisation des sols marginaux est de plus en plus ciblée pour réduire cette compétition. Ces sols ont la particularité d'être souvent pauvres, hétérogènes, peu profonds et donc propices à amplifier les problèmes de carence, notamment de stress hydrique, dont la fréquence est déjà prédite à l'augmentation du fait des fluctuations climatiques grandissantes (Giese *et al.* 2009).

De nouvelles cultures se sont développées face à ces nouveaux besoins. C'est le cas de *miscanthus* (*M. sinensis*), graminée pérenne de type C4, se reproduisant à partir de rhizomes et produisant des quantités importantes de biomasse aérienne de qualité intéressante pour la production durable de bioproduits : sa biomasse est peu riche en minéraux et présente de faibles besoins en azote (Dohleman and Long 2009). Le sorgho fait aussi partie des plantes d'intérêt dans ce contexte, car capable de produire des quantités de biomasse considérables, notamment par un rallongement de sa phase végétative en réponse à la photopériode et par sa bonne tolérance au stress hydrique (Habyarimana *et al.* 2004). Par ailleurs le sorgho est intéressant pour sa grande diversité génétique, offrant l'opportunité de combiner des caractères en profitant de leur polymorphisme (en particulier, phénologie, vigueur végétative, résistance au stress hydrique, composition de la biomasse (Ali *et al.* 2008; Carpita and McCann 2008; Habyarimana *et al.* 2004).

Les acquis des projets mentionnés dans mon bilan de recherche (Sweetfuel, DELICAS) fournissent d'ores et déjà des bases cognitives, méthodologiques et collaboratives (notamment interdisciplinaires) pertinentes pour s'adresser à la définition d'idéotypes de sorgho à vocation de production de biomasse. C'est l'orientation principale que je compte donner à mon projet de recherche des 8-10 années à venir.

C. Un projet en montage structurant : « biomass crop for the future »

1. Objectifs généraux

Le projet « biomass crop for the future » a été déposé à l'appel d'offre ANR « grand emprunt, biotechnologie et bioressources » en octobre 2011 et sera, si accepté, le support de mon nouveau projet de recherche (2013 – 2020). Ce projet a pour objectif de développer et mettre en œuvre des systèmes de production et valorisation de la biomasse ligno-cellulosique chez deux espèces : le sorgho et miscanthus. Pour cela, l'idée est de tirer profit de la diversité génétique chez ces deux espèces pour optimiser leur performances en combinant tolérance à la sécheresse, valeur environnementale (faibles impacts environnementaux) et industrielle (vers la production de biocarburants, et bioplastiques notamment). La problématique du stress hydrique est justifiée notamment par l'objectif d'utiliser des zones marginales de culture (vignes arrachées, friches industrielles) avec des sols peu profonds et hétérogènes.

2. Mes objectifs : vers la définition d'idéotypes de sorgho 'biomasse'

Dans ce projet, coordonné par Herman Hofte (IJPB) j'aurais la tâche de coordonner le montage puis les activités d'un 'work-package' (WP) visant à mener une démarche d'écophysiologie comparative entre les espèces concernées en vue du développement et de l'application d'outils de phénotypage et d'exploration d'idéotypes. L'idée est de **développer des idéotypes de sorgho produisant beaucoup de biomasse de composition favorable (teneur en lignine, cellulose, etc.) aux besoins industriels, et ce pour des conditions hydriques potentiellement défavorables et avec des impacts environnementaux réduits (efficacité d'utilisation de l'eau notamment concernant le sorgho).**

Mon travail se centrera essentiellement sur le sorgho, qui sera une plante modèle dans ce WP, du fait du niveau d'avancement des recherches écophysiologiques et génétiques comparé à miscanthus. Cependant, il s'agira de permettre autant que possible des ponts et transferts de connaissance et méthodologiques vers miscanthus mais nous ne parlerons ici que du sorgho. Même si mes recherches se centreront sur l'approche expérimentale et la modélisation des relations source-puits plante entière, il s'agira de coordonner des interactions étroites avec les collègues s'adressant aux échelles tissulaires (anatomie et composition des tissus des entrenœuds) et organiques (biochimie, composition globale des entrenœuds).

Dans ce nouveau contexte thématique, la plupart des questions de recherche posées en amont de mon bilan de recherche restent valables, en mentionnant cependant certaines questions de recherche plus spécifiques à la thématique décrite ci-dessus :

- 1) Comment la phénologie et la morphologie de la plante interagissent vers l'accumulation de biomasse : rôle du taux de développement de la plante ?
- 2) Dans quelle mesure l'architecture de la plante (hauteur, distribution des feuilles) peut affecter l'interception du rayonnement, l'assimilation carbonée, la respiration foliaire et donc l'accumulation de biomasse : rôle du fonctionnement source vs puits
- 3) Jusqu'où doit-on considérer l'architecture de la plante pour concevoir et modéliser des idéotypes de sorgho à vocation d'accumulation de biomasse ?
- 4) Quelles relations (génétiques, physiologiques) entre les caractères relatifs à la quantité (hauteur, taille et nombre des organes, tallage) et qualité (teneurs en lignine, cellulose etc.) de biomasse : quel impact d'un stress hydrique ?
- 5) Des différences génotypiques dans la composition de la biomasse peuvent-elles représenter des coûts énergétiques différents pour la plante et impacter sur la quantité de biomasse ?
- 6) Quel impact de la croissance racinaire sur la croissance aérienne ?

a) Analyse fonctionnelle : enjeu d'une approche pluri-échelle et pluridisciplinaire

Des expérimentations (deux a priori) sur quelques génotypes seront organisées au champ sur la plateforme DIAPHEN (station INRA de Melgueil, en collaboration avec l'équipe sur place). Celles-ci donneront lieu à minimum deux stages de Master 1 ou 2 par expérimentation.

Quatre à cinq génotypes contrastées vis-à-vis des caractères étudiés (composition et quantité de biomasse) seront étudiés en termes : (i) d'anatomie tissulaire (laboratoire PHIV de l'UMR AGAP), (ii) de composition biochimique des entrenoeuds (teneurs en carbohydrates (non) structuraux par biochimie humide ou Spectrométrie Proche Infra Rouge, SPIR ; équipe PAM de l'UMR AGAP et UMR SELMET du CIRAD), (iii) de morphogénèse de la plante entière (croissance et développement, architecture, taille et nombre d'organes, tallage, accumulation de biomasse), (iv) ainsi que des échanges gazeux au niveau des feuilles (assimilation carbonée, respiration). Deux traitements hydriques contrastés seront appliqués (irrigué et stressé durant la phase d'allongement des entrenoeuds).

Ce travail donnera lieu à une thèse (débutant en 2013) centrée sur l'étude des relations source-puits sous-jacentes à l'accumulation de biomasse de la plante, ses interactions avec sa composition et l'appui à la conceptualisation d'un modèle (par amélioration d'Ecomeristem).

b) Vers des approches adaptées au phénotypage à grande échelle : du champ au laboratoire

Les mesures fines souvent fastidieuses et invasives citées ci-dessus, seront comparées à des mesures non destructives et plus rapides d'acquisition qui, une fois calibrées, seront plus pertinentes pour le phénotypage au champ (DIAPHEN) des processus source-puits constituant la production de biomasse et sa plasticité sous stress hydrique: fluorescence rapide par Handy PEA (Hansatech Instruments Ltd, Norfolk, UK) comme proxy du taux de photosynthèse ; Labspec (ASD Inc., Bolder, CO) pour l'acquisition d'un spectre SPIR *in situ* à comparer à des mesures SPIR de laboratoire sur tissu sec ; des images ou signaux (proxi-détection) du couvert acquises dans le visible et le PIR pour le calcul du taux de couverture, du NDVI (Normalized Vegetation Index (Tucker 1979), du LAI également estimé par SunScan (Delta-T Devices, Cambridge, UK) et confrontation à la quantité de biomasse par unité de volume du couvert.

DIAPHEN est une plateforme de phénotypage au champ à vocation d'étudier les plantes sous l'effet d'un stress hydrique. Cette plateforme est encore en phase de construction et de mise en place et test des équipements. Des essais sur sorgho ont déjà été organisés pour tester la croissance de cette espèce sur le site et mettre au point les itinéraires techniques. L'insertion du sorgho comme une plante prioritaire de DIAPHEN fera que des investissements spécifiques aux problématiques relatives au sorgho seront faits dans les prochaines années sur cette plateforme via des projets (par exemple pour une automatisation de la récolte de la biomasse).

Par ailleurs, la mise au point d'indicateurs métaboliques et anatomiques via notamment les approches SPIR, de chimie humide ou encore d'imagerie tissulaire (que je ne détaillerai pas dans ce rapport, puisqu'elles sont complémentaires mais pas partie intégrante de mon projet de recherche et de mon échelle de travail) pourrait contribuer au développement d'autres plateaux d'analyse et de phénotypage haut débit à ces échelles.

c) Formalisation par une approche de modélisation : appui au phénotypage et conception d'idéotypes variétaux

Les analyses fonctionnelles décrites ci-dessus permettront de concevoir un modèle formalisant les processus source-puits constituant la morphogénèse de la plante de sorgho dans son peuplement, sa production de biomasse et leur régulation par son état hydrique ou carboné. Selon les résultats expérimentaux obtenus, les interactions physiologiques (et/ou génétiques) entre production et composition de la biomasse seront formalisées de façon plus ou moins complexe.

Les formalismes existant dans Ecomeristem seront utilisés comme point de départ, ce modèle simulant d'ores et déjà la morphogénèse des graminées (canne à sucre notamment) en termes d'apparition et croissance des feuilles et entrenoeuds, d'accumulation de biomasse structurale et de stockage / remobilisation de sucres non structuraux au niveau des entrenoeuds notamment. D'autre part les données acquises dans Sweetfuel dans le cadre de la thèse de Sylvain Gutjahr seront utilisées en 2012 pour une première adaptation et calibration du modèle pour le sorgho en phase d'élongation des entrenoeuds et accumulation de sucres (non) structuraux notamment.

Afin de pouvoir appréhender les impacts de l'architecture des plantes sur les relations source-puits, le modèle sera couplé de façon optionnelle à des outils de représentation 3D des plantes. Celles-ci pourront servir de support pour des calculs de processus physiologiques ou biophysiques répondant aux conditions micrométéorologiques, notamment : l'interception de la lumière, l'assimilation carbonée et la respiration de croissance à l'échelle des organes. Cela sera rendu possible par le couplage déjà fonctionnel entre Ecomeristem et la plateforme de modélisation OpenAlea (Soulié *et al.* 2010). Ces calculs pourront se substituer dans Ecomeristem à un calcul plus frustre de certaines variables (notamment l'assimilation carbonée et interception du rayonnement ; Chelle and Andrieu 1998; Chelle and Gutschick 2010). Cela sera rendu possible par la caractérisation, dans les expérimentations mentionnées plus haut, de ces processus en relation avec le microclimat de la plante, son architecture et celle du couvert et son état hydrique. Les protocoles adaptés seront donc élaborés en étroite collaboration avec les collègues d'OpenAlea. Sans parler d'approche 3D, les formalismes simplistes utilisés dans Ecomeristem pour le calcul des échanges gazeux et de leur réponse au stress hydrique devront par ailleurs être améliorées pour mieux adresser leur diversité génétique.

Ainsi, une fois améliorés, Ecomeristem et Ecomeristem-3D (version couplée via OpenAlea) pourront servir à explorer des idéotypes par combinaison de caractères, i.e. de valeurs de paramètres.

Les expérimentations décrites plus haut serviront à concevoir et valider le modèle. 4 à 6 génotypes supplémentaires seront inclus dans le dispositif mais donneront lieu à des mesures plus simples pour tester la capacité du modèle (non couplé au 3D) à discriminer des génotypes sur la base de ses paramètres. Si concluant, le modèle sera utilisé pour appuyer le phénotypage (tel que décrit dans le bilan de recherche) de collections de sorgho dans le même projet « Biomass crops for the future ».

Les fortes interactions entre écophysiologie et informatique nécessiteront le co-encadrement d'un post-doctorant dans le cadre de ce projet.

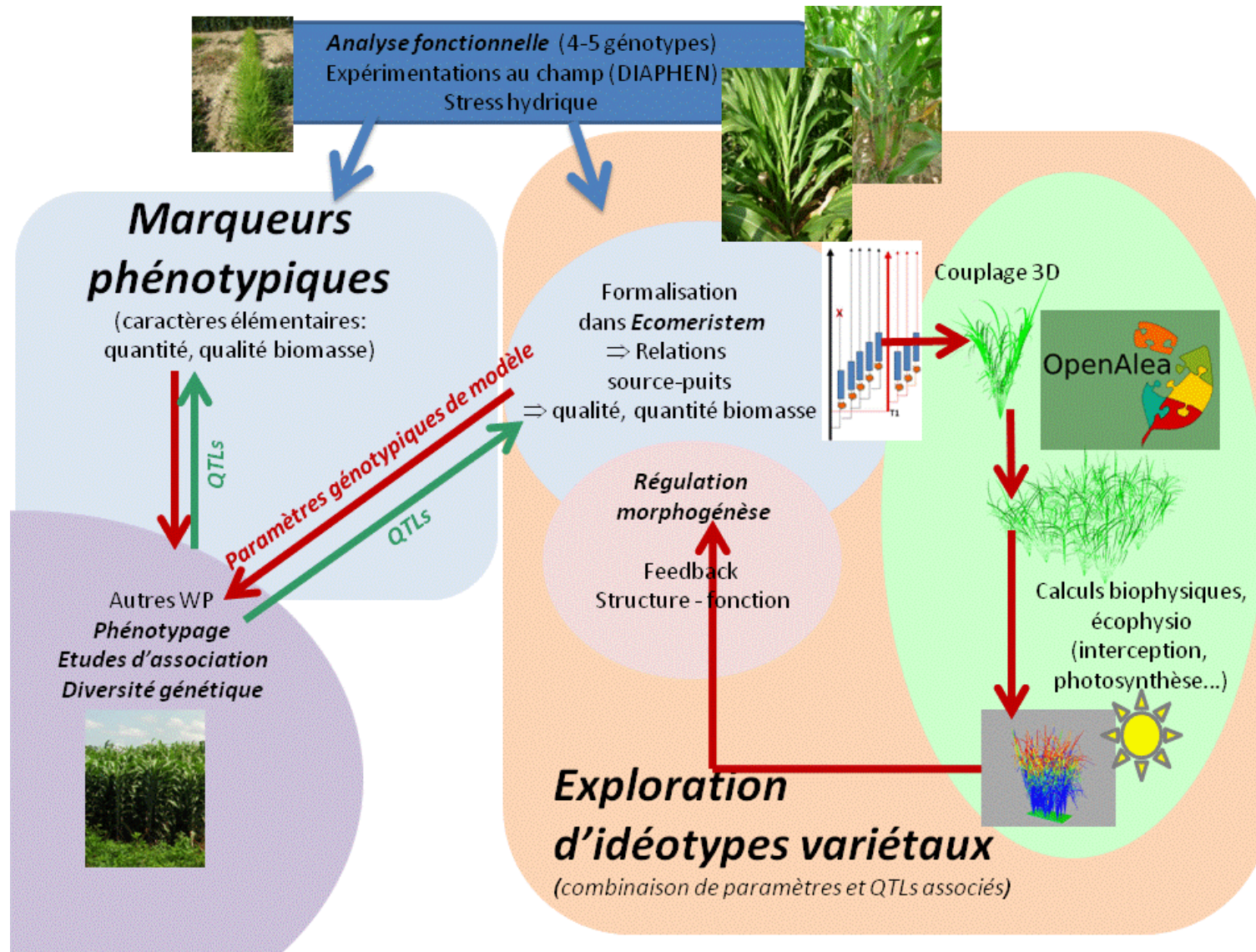


Figure 9 : Vers la définition d'idéotypes de sorgho à vocation de production de biomasse : exploration des caractères élémentaires favorables à la quantité ou qualité de la biomasse ; définition de marqueurs phénotypiques permettant d'identifier des QTLs contrôlant ces caractères ; exploration par modélisation de combinaisons de caractères (et si possible de QTLs associés) optimisant la production de biomasse dans un environnement donné.

D. Valorisation de mes travaux sur la vigueur au départ chez le riz: rôle dans l'amélioration de potentiels de rendement ?

Les travaux sur le riz présentés dans mon bilan de recherche offrent aujourd'hui des bases cognitives et méthodologiques originales vers la compréhension des bases génétiques et environnementales de la vigueur végétative et sa plasticité. Nous avons démontré que les génotypes vigoureux du fait de grandes feuilles ont tendance à stocker de l'amidon durant la phase végétative contrairement aux génotypes vigoureux par leur fort taux de développement et tallage : vigueur développementale et taille de feuilles se sont même avérées négativement corrélées au sein de la diversité naturelle du riz (Rebolledo *et al.* In press).

La remobilisation de l'amidon stocké par la plante s'est montrée favorable au maintien de sa croissance durant un épisode de contrainte environnementale durant la phase végétative (notamment hydrique) ; mais ce comportement adaptatif n'est en règle générale pas associé à une vigueur végétative constitutive (Rebolledo *et al.* Accepted in Rice). Le dernier chapitre de la thèse de MC Rebolledo (rédaction en cours de finalisation) montre d'ailleurs que les génotypes les moins vigoureux maintiennent mieux leur transpiration foliaire, leur efficacité de transpiration et donc leur croissance durant un stress hydrique.

Tous ces résultats ont permis de définir de nouveaux jeux de marqueurs phénotypiques (teneurs en amidon dans les feuilles, variables morphogénétiques, réponse de la transpiration foliaire à la FTSW, paramètres du modèle Ecomeristem) qui permettront à court terme d'étudier les bases génétiques de la vigueur végétative et de sa plasticité (études d'association mentionnées plus haut prévues en 2012). D'autre part, ils fournissent de nouveaux éléments vers l'amélioration des potentiels de rendement et leur stabilité. En effet la vigueur végétative confère à la plante la faculté d'acquérir et transformer au mieux les ressources disponibles et donc de passer au stade reproductif dans un état source-puits le plus optimal possible pour exprimer son potentiel de rendement: mise en place de la surface foliaire verte et du système racinaire pour acquérir les ressources ; production de talles fertiles vs sénescence de talles. Aussi, l'étude des liens physiologiques et génétiques entre vigueur végétative et les composantes du potentiel de rendement s'avère un enjeu important et un certain nombre de questions de recherches sont à adresser:

- Dans quelle mesure le stockage d'amidon chez le riz en phase végétative, notamment chez les génotypes à grandes feuilles, est associé à un stockage d'amidon dans ses tiges au stade ultérieur de pré-floraison ?
- Quelle relation entre capacité à mobiliser l'amidon avant et après floraison, sachant que la remobilisation de l'amidon dans les tiges vers le grain est un caractère clé pour améliorer les potentiels de rendement?
- Quelle relation avec la résistance à la verse ?
- Dans quelle mesure le taux de sénescence des talles et la définition du nombre de talles fertiles avant floraison est associé au stockage / destockage de l'amidon ?
- Quelle relation entre le taux de développement (et la taille des organes) végétatif et reproductif (paniculaire) ?
- Dans quelle mesure certains marqueurs phénotypiques précoces peuvent donc être utilisés pour caractériser des composantes du potentiel de rendement ?

Ces questions pourront être adressées via des expérimentations sur quelques génotypes (une dizaine) contrastés pour les caractères étudiés. Cela permettra par ailleurs de finaliser le développement et la validation du modèle Ecomeristem adapté au cycle entier de la plante de riz (initié en 2009 et toujours en chantier). Le modèle pourra alors être utilisé pour explorer des idéotypes de riz montrant les meilleurs potentiels de rendement par un comportement optimal morphogénétique et métabolique à la fois végétatif et reproductif. De telles expérimentations pourront aussi être le cadre pour mettre au point ou du moins tester des calibrations SPIR pour le dosage de l'amidon chez le riz, qui pourraient être extrêmement utiles dans une démarche de phénotypage.

Ce travail s'inscrira essentiellement dans le cadre du GRiSP (Global Rice Science Partnership) du CGIAR (Consultative Group of International Agricultural Research), notamment dans le projet commissionné PRAY (« Frontier project » : Phenomics of Rice for Adaptation and Yield potential) soumis fin 2011. Une thèse est déjà prévue dans ce contexte et devrait démarrer fin 2012 pour adresser certaines des questions mentionnées vers l'exploration d'idéotypes et la définition de nouveaux caractères pour le phénotypage des composantes du potentiel de rendement. Dans ce même projet nos travaux sur la phase végétative seront mis à profit pour le phénotypage (par modèle et marqueurs métaboliques notamment). Aussi, la plupart des expérimentations sur le riz dans lesquelles je serai impliquée dans les années à venir auront lieu à l'IRRI (au champ notamment aux Philippines).

E. Vision élargie du champ d'application et à plus long terme

Les moyens informatiques et génomiques actuels feront de la modélisation des plantes un outil de plus en plus performant en appui à l'exploration d'idéotype et la sélection variétale. L'information génomique accessible va considérablement s'élargir du fait des moyens de génotypage très haut débit, des marqueurs génomiques de plus en plus fins et nombreux (types SNP). Sa mise à profit pour étudier la diversité génétique existante via des études d'association génétique consolidera de façon considérable la mise en oeuvre de la sélection génomique et du pyramidage moléculaire (introgression successive dans un fonds génétique récurrent). Ceci nécessitera la définition précise de l'idéotype visé se traduisant dans un choix précis de parents récurrents et de l'ensemble des caractères à pyramider dans ce fond génétique. Le rôle de l'écophysiologie et de la modélisation est donc évident dans les prochaines années (cf. contexte GRiSP pour le riz et projet « Biomass » pour le sorgho).

Le sorgho, du fait de sa formidable diversité naturelle et sa place de plante modèle pour les C4, et le riz, du fait de son rôle de plante modèle et de denrée alimentaire essentielle au niveau mondiale, seront en tête de liste pour ce type d'approches. C'est donc dans les cinq ans à venir que les moyens en phénotypage devront se développer et fonctionner en haut débit.

Les synténies entre espèces ainsi que les similarités morphogénétiques, écophysiologiques devront être de plus en plus exploitées pour permettre l'accélération de l'amélioration variétale chez un maximum d'espèces afin de répondre aux besoins futurs de notre société. C'est pourquoi la comparaison entre espèces et la recherche d'approches et connaissances génériques telles que décrites dans mon bilan de recherche puis dans mon projet sont, je pense, un enjeu scientifique fort d'avenir.

Le rôle de la transformation génétique devrait dans ce contexte rester important afin (1) d'utiliser des transgènes spécialement construits (surexpression avec un promoteur sensible aux signaux de l'état physiologique (nutritionnelle, phénologique) de la plante ou d'un organe ou tissu) ou (2) exploiter la diversité génétique naturelle au-delà les limites de l'espèce ou du genre. Dans ce dernier cas, des gènes pour des facteurs de transcription, notamment ceux qui orchestrent l'expression d'un réseau de gènes liés aux stress par exemple, sont d'un intérêt particulier. La conservation de fonctions importantes de ces facteurs de transcription au travers des distances phylogénétiques importantes rend cette approche particulièrement prometteuse (Ben Saad *et al.* 2011). Elle permettra ultérieurement de concevoir créer des idéotypes caractérisés par des normes de réaction inductibles par des signaux environnementaux ou physiologiques en se servant des réseaux génétiques existants. Ici aussi, le rôle important de la modélisation physiologique est évident.

III. Bibliographie

Ahmadi N, Courtois B, Frouin J, Thomasi S, Dingkuhn M, Luquet D (in preparation) Mapping QTLs for rice seedling responses to phosphorus deficiency using phenotyping assisted by EcoMeristem model.

Ahmadi N, Luquet D, Courtois B, Dingkuhn M (2008) Mapping QTL involved in rice early morphogenesis as described by the process based parameters of EcoMeristem model. In 'Whole plant physiology modelling project: Final meeting '. Johnston, Iowa (USA). (Ed. LD (ed.))

Ali ML, Rajewski JF, Baezinger PS, Gill KS, Eskridge KM, Dweikat I (2008) Assessment of genetic diversity and relationship among a collection of US sweet sorghum germplasm by SSR markers. *Molecular Breeding* **21**, 497–509.

Aphalo P, Ballare C (1995) On the importance of information-acquiring systems in plant-plant interactions. *Functional Ecology* **9**, 5-14.

Asai K, Satoh N, Sasaki H, Satoh H, Nagato Y (2002) A rice heterochronic mutant, *mori1*, is defective in the juvenile-adult phase change. *Development* **129**, 265-273.

Balota M, Payne WA, Veeragoni SK, Stewart BA, Rosenow DT (2010) Respiration and Its Relationship to Germination, Emergence, and Early Growth Under Cool Temperatures in Sorghum. *Crop Science* **50**, 1414–1422.

Ben Saad R, Fabre D, Mieulet D, Meynard D, Dingkuhn M, Al-Doss A, Guiderdoni E, Hassairi A (2011) Expression of the *Aeluropus littoralis* AISAP gene in rice confers broad tolerance to abiotic stresses through maintenance of photosynthesis. *Plant, Cell & Environment*.

Bergez JE, Chabrier P, Garcia F, Gary C, Jeuffroy M, Martin-Clouaire R, Raynal H, Wallach D (2007) Studing cropping system management by simulation: the RECORD platform project . Methodologies for Integrated Analysis of Farm Production Systems. In 'Farming systems design'. Catania, Sicily, Italy

Bertin N, Martre P, Génard M, Quilot B, Salon C (2010) Under what circumstances can process-based simulation models link genotype to phenotype for complex traits? Casestudy of fruit and grain quality traits. *Journal of Experimental Botany* **61**, 955–967.

Bouman BAM, Kropff MJ, Tuong TP, Wopereis M, H.F.M. TB, H.H. VL (2001) 'ORYZA2000: Modelling Lowland Rice.' (Manila, Philippines)

Brisson N, Mary B, Ripoche D, Jeuffroy MH, Ruget F, Gate P, Devienne-Barret F (1998) STICS: A generic model for the simulation of crops and their water and nitrogen balance. I- Theory and parameterization applied to wheat and corn. *Agronomie* **18**, 311-346.

Carpita NC, McCann MC (2008) Maize and sorghum: genetic resources for bioenergy grasses. *Trends in Plant Science* **13**, 415-420.

Chapman SC, Cooper MC, Hammer GL, Butler D (2000) Genotype by environment interactions affecting grain sorghum. II. Frequencies of different seasonal patterns of drought stress are related to location effects on hybrid yields. *Australian Journal of Agricultural Research* **51**, 209-222.

Chelle M, Andrieu B (1998) The nested radiosity model for the distribution of light within plant canopies. *Ecological Modelling* **111**, 75-91.

Chelle M, Gutschick V (2010) A nested approach to model the temperature of individual leaves within crop canopies. In 'FSPM, Functional Structural Plant Modelling'. University of California, Davis, CA, USA

Chenu K, Chapman S, Hammer GL, McLean G, Ben-Haj-Salah H, Tardieu F (2008) Short term response of leaf growth rate to water deficit. Scale up to the whole plant level. An integrated modelling approach in maize. *Plant , Cell and Environment* **31**, 378-391.

Chenu K, Chapman SC, Tardieu F, McLean G, Welcker C, Hammer GL (2009) Simulating the Yield Impacts of Organ-Level Quantitative Trait Loci Associated With Drought Response in Maize: A "Gene-to-Phenotype" Modeling Approach. *Genetics* **183**, 1507–1523.

Dingkuhn M, Luquet D, Kim HK, Tambour L, Clément-Vidal A (2006) Ecomeristem, a Model of Morphogenesis and Competition among Sinks in Rice: 2. Simulating Genotype Responses to Phosphorus Deficiency. *Functional Plant Biology* **33**, 325-337.

Dingkuhn M, Luquet D, Quilot B, Reffye PD (2005) Environmental and genetic control of morphogenesis in crops: Towards models simulating phenotypic plasticity. *Australian Journal of Agricultural Research* **56**, 1-14.

Dohleman FG, Long SP (2009) More Productive Than Maize in the Midwest: How Does Miscanthus Do It? *Plant Physiol.* **150**, 2104–2115.

Dufey A (2006) Biofuels production, trade and sustainable development:emerging issues. Sustainable Markets Discussion; Paper Number 2. In. (IIED)

El-Lithy ME, Reymond M, Stich B, Koornneef M, Vreugdenhil D (2010) Relation among plant growth, carbohydrates and flowering time in the Arabidopsis Landsberg erecta * Kondara recombinant inbred line population. *Plant , Cell and Environment* **33**, 1369–1382.

Flexas J, Bota J, Galmès J, Medrano H, Ribas-Carbo M (2006) Keeping a positive carbon balance under adverse conditions: responses of photosynthesis and respiration to water stress. *Physiologia Plantarum* **127**, 343–352.

Gibon Y, Blaessing OE, Hannemann J, Carillo P, Hohn M, Hendriks JHM, Palacios N, Cross J, Selbig J, Stitt M (2004) A Robot-Based Platform to Measure Multiple Enzyme Activities in Arabidopsis Using a Set of Cycling Assays: Comparison of Changes of Enzyme Activities and Transcript Levels during Diurnal Cycles and in Prolonged Darkness. *The Plant Cell* **16**.

Giese M, Brueck H, Dingkuhn M, Kiepe P, Asch F (2009) Developing rice and sorghum crop adaptation strategies for climate change in vulnerable environments in Africa RISOCAS. In 'Tropentag 2009'. University of Hamburg, Hamburg.

Granier C, Tardieu F (2009) Multi-scale phenotyping of leaf expansion in response to environmental changes: the whole is more than the sum of parts. *Plant , Cell and Environment* **62**, 1175-1184.

Gutjahr S, Clément-Vidal A, Soutiras A, Sonderegger N, Braconnier S, Dingkuhn M, Luquet D ((c)) Functional analysis of sugar accumulation in sorghum stems: Competition with grain filling and interaction with phenology. *Submitted in Annals of Botany*.

Gutjahr S, Clément-Vidal A, Trouche G, Vaksman M, Thera K, Sonderegger N, Dingkuhn M, Luquet D (2010) Functional analysis of sugar accumulation in sorghum stems and its competition with grain filling among contrasted genotype. In 'Agro2010'. Montpellier, France

Gutjahr S, Vaksman M, Dingkuhn M, Thera K, Trouche G, Braconnier S, Luquet D ((b)) Sorghum as a multipurpose crop in soudano-sahelian conditions. II. Effect of photoperiod on carbohydrate allocation to plant structure, storage and grain filling. *Submitted in Annals of Botany*.

Gutjahr S, Vaksman M, Thera K, Trouche G, Dingkuhn M, Luquet D ((a)) Sorghum as a multi-purpose crop in soudano-sahelian conditions. I. Grain and sugar yields interactions. *Submitted in Annals of Botany*.

Habyarimana E, Laureti D, De Ninno M, Lorenzoni C (2004) Performances of biomass sorghum [*Sorghum bicolor* (L.) Moench] under different water regimes in Mediterranean region. *Industrial Crops and Products* **20**, 23-28.

Hammer G, van Oosterom E, McLean G, Chapman C, Broad I, Harland P, Muchow RC (2010) Adapting APSIM to model the physiology and genetics of complex adaptive traits in field crops. *Journal of Experimental Botany* **61**, 2185–2202.

Hammer GL, Chapman S, Van Oosterom E, Poldich DW (2005) Trait physiology and crop modelling as a framework to link phenotypic complexity to underlying genetic systems. *Australian Journal of Agricultural Research* **56**, 947-960.

Hammer GL, Kropff MJ, Sinclair TR, Porter JR (2002) Future contributions of crop modelling - from heuristics and supporting decision making to understanding genetic regulation and aiding crop improvement. *European Journal of Agronomy* **18**, 15-31.

Haun JR (1973) Visual quantification of wheat development *Agronomy Journal* **65**, 116-119.

Heinemann AB, Dingkuhn M, Luquet D, Combres JC, Chapman S (2008) Characterization of drought stress environments for upland rice and maize in central Brazil. *Euphytica* **162**, 395 - 410.

Hill J, Nelson E, Tilman D, Polasky S, Tiffany D (2006) Environmental, economic, and energetic costs and benefits of biodiesel and ethanol biofuels. *PNAS* **103**, 11206-11210.

Hoffmann-Thoma G, Hinkel K, Noicolay PW, J. (1996) Sucrose accumulation in sweet sorghum stem internodes in relation to growth. *Physiologia Plantarum* **97**, 277-284.

Itoh JI, Hasegawa A, Kitano H, Nagato Y (1998) A recessive heterochronic mutation, plastochron 1, shortens the plastochron and elongates the vegetative phase in rice. *Plant Cell* **10**, 1511-1521.

Ji X, Raveendran M, Oane R, Ismail A, Lafitte R, Bruskiewich R, Cheng SH, Bennett J (2005) Tissue-specific expression and drought responsiveness of cell-wall invertase genes of rice at flowering. *Plant Molecular Biology* **59**, 945–964.

Jones HG, Serraj R, Loveys BR, Xiong Li Z, Wheaton A, Price AH (2009) Thermal infrared imaging of crop canopies for the remote diagnosis and quantification of plant responses to water stress in the field. (Special Issue: Plant phenomics). *Functional Plant Biology* **36**, 978-989.

Kim HK (2008) Modélisation du contrôle environnemental et génétique du tallage chez le sorgho. Thèse de doctorat en physiologie: développement et adaptation des plantes thesis, Montpellier 2 / Queensland (Australie).

Kim HK, Hammer G, Van Oosterom E, Dingkuhn M, Luquet D (2010a) Regulation of tillering in sorghum: Genotypic control. *Annals of Botany* **106**, 69-78.

Kim HK, Luquet D, Hammer G, Van Oosterom E, Dingkuhn M (2010b) Regulation of tillering in sorghum: Environmental effects *Annals of Botany* **106**, 57-67.

Kim JY, Mahe´ A, Brangeon J, Prioul JL (2000) A maize vacuolar invertase, IVR2, is induced by water stress. Organ/tissue specificity and diurnal modulation of expression. *Plant Physiology* **124**, 71-84.

Lafarge T, Seassau C, Martin M, Bueno C, Clément-Vidal A, Shrek E, Luquet D (2010) Regulation and recovery of sink strength in rice plants grown under changes in light intensity. *Functional Plant Biology* **37**, 418-423.

Liu F (2004) Root signal controls pod growth in drought-stressed soybean during the critical, abortion-sensitive phase of pod development. *Field Crop Research* **85**, 159-166.

Liu F, Jensen CR, Andersen MN (2004) Drought stress effect on carbohydrate concentration in soybean leaves and pods during early reproductive development: its implication in altering pod set. *Field Crop Research* **86**, 1-13.

Liu F, Jensen CR, Andersen MN (2005) A review of drought adaptation in crop plants: changes in vegetative and reproductive physiology induced by ABA-based chemical signals. *Australian Journal of Agricultural Research* **56**, 1245-1252.

Luquet D, Clément-Vidal A, This D, Fabre D, Sonderegger N, Dingkuhn M (2008a) Orchestration of transpiration, growth and carbohydrate dynamics in rice during a dry-down cycle. *Functional Plant Biology* **35**, 689-704.

Luquet D, Dingkuhn M, Clément-Vidal A (2008b) Modeling drought effects on rice with EcoMeristem : feedbacks of water and carbohydrate relations on phenotypic plasticity. In 'Whole plant physiology modelling project. Final meeting '. Johnston, Iowa (USA). (Ed. L Delphine)

Luquet D, Dingkuhn M, Clément-Vidal A, Mc Nally K (2008c) Model assisted phenotyping of morphogenetic process diversity within sativa rices. In 'Whole plant physiology modelling project. Final meeting '. Johnston, Iowa (USA). (Ed. L Delphine)

Luquet D, Dingkuhn M, Kim HK, Tambour L, Clément-Vidal A (2006) EcoMeristem, a Model of Morphogenesis and Competition among Sinks in Rice. 1. Concept, Validation and Sensitivity analysis. *Functional Plant Biology* **33**, 309-323.

Luquet D, Song YH, Elbelt S, This D, Clément-Vidal A, Périn C, Fabre D, Dingkuhn M (2007) Model-Assisted Physiological Analysis of Phyllo, a Rice Architectural Mutant. *Functional Plant Biology* **34**, 11-23.

Luquet D, Soulié JC, Huet C, Giraud AM, J.F. (2010) Modelling plant morphogenesis and source-sink processes to support crop performance phenotyping: application of Ecomeristem model to sugar cane. In 'AGRO2010 the 11th ESA congress'. Montpellier, France. (Ed. IS-T J. Wery, A. Perrin) pp. 579-580

Luquet D, Soulié JC, Rebolledo MC, Rouan L, Clément-Vidal A, Dingkuhn M (In press) Developmental dynamics and early growth vigour in rice 2. Modelling genetic diversity using Ecomeristem. *Journal of Agronomy and Crop Science*.

Luquet D, Zhang B, Dingkuhn M, Dexet A, Clément-Vidal A (2005a) Phenotypic plasticity of rice seedlings: case of phosphorus deficiency. *Plant Production Science* **8**, 145-151.

McBee GG, Miller FR (1982) Carbohydrates in sorghum culms as influenced by cultivars, spacing, and maturity over a diurnal period. *Crop Science* **22**, 381-385.

McNally K, Childs KL, Bohnert R, Davidson RM, Zhao K, Ulat VJ, Zeller G, Clark RM, Hoen DR, Bureau TE, Stokowski R, Ballinger DG, Frazer KA, Cox DR, Padhukasahasram B, Bustamante CD, Weigel D, Mackill DJ, Bruskiewich RM, Röttsch G, Buell CR, Leung H, Leach JE (2009) Genomewide SNP variation reveals relationships among landraces and modern varieties of rice. In 'Proc Natl Acad Sci (PNAS)'. U S A. (Ed. PNAS) pp. 12273-12278. (online)

Miyoshi K, Ahn BO, Kawakatsu T, Ito Y, Itoh JI, Nagato Y, Kurata N (2004) PLASTOCHRON1, a timekeeper of leaf initiation in rice, encodes cytochrome P450. *PNAS* **101**, 875-880.

Monna L, Kitazawa N, Yoshino R, Suzuki J, Masuda H, Maehara Y, Tanji M, Sato M, Nasu S, Minobe Y (2002) Positional Cloning of Rice Semidwarfing Gene, sd-1: Rice 'Green Revolution Gene' Encodes a Mutant Enzyme Involved in Gibberellin Synthesis. *DNA Research* **9**, 11-17.

Muller B, Pantin F, Génard M, Turc O, Freixes S, Piques M, Gibon Y (2011) Water deficits uncouple growth from photosynthesis, increase C content, and modify the relationships between C and growth in sink organs. *Journal of Experimental Botany* **62**, 1715–1729.

Pantin F, Simonneau T, Rolland G, Dauzat M, Muller B (2011) Control of Leaf Expansion: A Developmental Switch from Metabolics to Hydraulics. *Plant Physiology*.

Paterson AH, Bowers JE, Bruggmann R, Dubchak I, Grimwood J, Gundlach H, Haberer G, Hellsten U, Mitros T, Poliakov A, Schmutz J, Spannagl M, Tang H, Wang X, Wicker T, Bharti AK, Chapman J, Feltus FA, Gowik U, Grigoriev IV, Lyons E, Maher CA, Martis M, Narechania A, Otiillar RP, Penning BW, Salamov AA, Wang Y, Zhang L, Carpita NC, Freeling M, Gingle AR, Hash CT, Keller B, Klein P, Kresovich S, McCann MC, Ming R, Peterson DG, Mehboob ur R, Ware D, Westhoff P, Mayer KFX, Messing J, Rokhsar DS (2009) The Sorghum bicolor genome and the diversification of grasses. *Nature* **457**, 551-556.

Pellegrino A, Lebon E, Voltz M, Wery J (2004) Relationships between plant and soil water status in vine (*Vitis vinifera*, L.). *Plant and soil* **266**, 129-142.

Pigliucci M (2005) Evolution of phenotypic plasticity: where are we going now? . *Trends in Ecology and Evolution* **20**, 481-486.

Pradal C, Dufour-Kowalski S, Boudon F, Fournier C, Godin C (2008) OpenAlea: a visual programming and component-based software platform for plant modelling. *Functional Plant Biology* **35**, 751-760.

Ramel F, Sulmon C, Gouesbet G, Couée Y (2009) Natural variation reveals relationships between pre-stress carbohydrate nutritional status and subsequent responses to xenobiotic and oxidative stress in *Arabidopsis thaliana*. *Annals of Botany* **104**, 1323-1337.

Rebolledo MC, Dingkuhn M, Péré P, Mc Nally K, Luquet D (In press) Developmental dynamics and early growth vigour in rice. I. Relationship between development rate and growth. *Journal of Agronomy and Crop Science*.

Rebolledo MC, Forest M, Seranuch C, Soulié JC, Rouan L, Dingkuhn M, Fabre D, Luquet D (2009) Model assisted phenotyping of processes involved in rice response to drought: case study of a tropical japonica population during vegetative phase. In 'Interdrought'. Shanghai, China

Rebolledo MC, Luquet D, Clément-Vidal A, Rouan L, Dingkuhn M (Accepted) Phenomics of rice early vigour and drought response: Are Sugar related and morphogenetic traits relevant? *Rice*.

Reymond M, Muller B, Leonardi A, Charcosset A, Tardieu F (2003) Combining Quantitative Trait Loci analysis and an ecophysiological model to analyse the genetic variability of the responses of maize leaf growth to temperature and water deficit. *Plant Physiology* **131**, 664-675.

Reymond M, Muller B, Tardieu F (2004) Dealing with the genotypeXenvironment interaction via a modelling approach: a comparison of QTLs of maize leaf length or width with QTLs of model parameters. *Journal of Experimental Botany* **55**, 2461-2472.

Ritter KB, Chapman S, Jordan D, Godwin I, McIntyre L (2004) Investigating the use of sweet sorghum as a model for sugar accumulation in sugarcane. In '4th International Crop Science Congress, 26 September-1 October, 2004'. Brisbane, Australia

Ritter KB, McIntyre CL, Godwin DC, Jordan D, Chapman S (2007) An assessment of the genetic relationship between sweet and grain sorghums, within *Sorghum bicolor* ssp. *bicolor* (L.) Moench, using AFLP markers. *Euphytica* **157**, 161–176.

Rodriguez D, Pomar MC, Goudriaan J (1998) Leaf primordia initiation, leaf emergence and tillering in wheat (*Triticum Aestivum* L.) grown under low-phosphorus conditions. *Plant and Soil* **202**, 149-157.

Rolland F, Baena-Gonzalez E, Sheen J (2006) Sugar Sensing and Signaling in Plants: Conserved and Novel Mechanisms. *Annu. Rev. Plant Biol.* **57**, 675–709.

Shane MW, Vos MD, Roock SD, Lambers H (2003) Shoot P status regulates cluster-root growth and citrate exudation in *Lupinus albus* grown with a derived root system. *Plant , Cell and Environment* **26**, 265-273.

Soulié JC, Pradal C, Fournier, Luquet D (2010) Modelling the feedbacks between rice plant microclimate and morphogenesis. First results of Ecomeristem integration into OpenAlea. In 'FSPM, Functional Structural Plant Modelling'. Univesity of California, Davis, California, USA

Stitt M, Gibon Y, Lunn JE, Piques M (2007) Multilevel genomics analysis of carbon signalling during low carbon availability: coordinating the supply and utilisation of carbon in a fluctuating environment. *Functional Plant Biology* **34**, 526-549.

- Tardieu F, Reymond M, Muller B, Granier C, Simonneau T, Sadok W, Welcker C (2005) Linking physiological and genetic analyses of the control of leaf growth under changing environmental conditions. *Australian Journal of Agricultural Research* **56**, 937-946.
- Tisné S, Reymond M, VILE D, Fabre J, Dauzat M, Koormeef MG, C. (2008) Combined Genetic and Modeling Approaches Reveal That Epidermal Cell Area and Number in Leaves Are Controlled by Leaf and Plant Developmental Processes in Arabidopsis. *Plant Physiology* **148**, 1117-1127.
- Tollenaar M, Lee EA (2002) Yield potential, yield stability and stress tolerance in maize. *Field Crops Research* **75**, 161-169.
- Trouverie J, Chateau-Joubert S, Thévenot A, Jacquemot M, Prioul JL (2004) Regulation of vacuolar invertase by abscisic acid or glucose in leaves and roots from maize plantlets. *Planta* **219**, 894-905.
- Trouverie J, Prioul JL (2006) Increasing leaf export and grain import capacities in maize plants under water stress. *Functional Plant Biology* **33**, 209-218.
- Tuck G, Glendining MJ, Smith P, Housec JI, Wattenbach M (2006) The potential distribution of bioenergy crops in Europe under present and future climate. *Biomass and Bioenergy* **30**, 183-197.
- Tucker CJ (1979) Red and Photographic Infrared Linear Combinations for Monitoring Vegetation. *Remote Sensing Of Environment* **8**, 127-150.
- Vietor DM, Miller FR (1990) Assimilation, partitioning and Nonstructural carbohydrates in Sweet Compared with Grain sorghum. *Crop Science* **30**, 1109-1115.
- Vos J, Evers JB, Buck-Sorlin GH, Andrieu B, Chelle M, de Visser PHB (2010) Functional structural plant modelling: a new versatile tool in crop science. *Journal of Experimental Botany* **61**, 2101-2115.
- W. ter Steege M, den Ouden FM, Lambers H, Stam P, Peeters AJM (2005) Genetic and Physiological Architecture of Early Vigor in *Aegilops tauschii*, the D-Genome Donor of Hexaploid Wheat. A Quantitative Trait Loci Analysis1[w]. *Plant Physiology* **139**, 1078-1094.
- Wang E, Robertson MJ, Hammer GL, Carberry PS, Holzworth D, Meinke H, Chapman SC, Hargreaves JNG, Huth NI, McLean G (2002) Development of a generic crop model template in the cropping system model APSIM. *European Journal of Agronomy* **18**, 121-140.
- Welcker C, Boussuge B, Bencivenni C, Ribaut J-M, Tardieu F (2007) Are source and sink strengths genetically linked in maize plants subjected to water deficit? A QTL study of the responses of leaf growth and of Anthesis-Silking Interval to water deficit. *Journal of Experimental Botany* **58**, 339-349.
- Wright SD, McConnaughay KDM (2002) Interpreting phenotypic plasticity : the importance of ontogeny. *Plant Species Biology* **17**, 119-131.
- Yin X, Kropff M, Stam P (1999) The role of ecophysiological models in QTL analysis: the example of specific leaf area in barley. *Heredity* **82**, 412-421.
- Zahniser S (2010) EU environmental sustainability Requirements and Brazilian Biofuel Exports. *EuroChoices* **9**, 28-34.

Zhao DL, Atlin GN, Bastiaans L, Spiertz JHJ (2006) Comparing rice germplasm groups for growth, grain yield and weed-suppressive ability under aerobic soil conditions. *Weed Research* **46**, 444–452.

Zou J, Chen Z, Zhang S, Zhang W, Jiang G, Zhao X, Zhai W, Pan X, Zhu L (2005) Characterizations and fine mapping of a mutant gene for high tillering and dwarf in rice (*Oryza sativa* L.). *Planta* **222**, 604–612.